

ANNALES DE PARASITOLOGIE
HUMAINE ET COMPARÉE

ANNALES

DE

PARASITOLOGIE

HUMAINE ET COMPARÉE

DIRECTEUR :

Professeur E. BRUMPT

SECRÉTAIRES GÉNÉRAUX :

M. LANGERON — M. NEVEU-LEMAIRE

H. GALLIARD

Tome XXIII. — 1948



MASSON ET C^{IE}, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS

ANNALES DE PARASITOLOGIE

HUMAINE ET COMPARÉE

TOME XXIII

1948

Nos 1-2

MÉMOIRES ORIGINAUX

SUR TROIS DIPLOSTOMES DE CROCODYLIENS (TREMATODA : STRIGEIDA)

Par Georges DUBOIS

Cette note est publiée à l'occasion d'une détermination de collection que nous a confiée M. Robert-Ph. Dollfus. Nous remercions notre distingué collègue de l'amabilité avec laquelle il nous a reçu à son laboratoire du Muséum, lui restant obligé de s'être servi de notre crédit, dans l'occurrence favorable d'un séjour à Paris, pour nous avantager de cette nouvelle contribution à la connaissance des diplostomes de reptiles.

1. PSEUDONEODIPLOSTOMUM DOLLFUSI n. sp.

Une préparation totale de la collection de M. Dollfus, portant la date 12-9-81, réunissait quatre « parasites de l'intestin de *Crocodilus galeatus* » (= *C. siamensis* Schneid.), sans indication de provenance. Ceux-ci nous parurent trop fragiles pour qu'il soit question d'en réduire un ou deux en coupes, si bien que l'étude détaillée du tractus génital n'a pu être faite. Cependant, l'attribution de ces vers au genre *Pseudoneodiplostomum* Dubois n'apparaît point douteuse, si l'on prend en considération les indices morphologi-



FIG. 1. — *Pseudoneodiplostomum dollfusi* n. sp., de *Crocodilus siamensis* Schneid. (= *C. galatus* Cuv.). Longueur: 6 mm. 76.

ques, en tout point comparables à ceux des espèces congénériques. Mais leurs dimensions sont nettement supérieures à celles qui caractérisent ces dernières. Aussi ces parasites se classent-ils parmi les géants de la famille des Protérodiplostomatidés, dont ils représentent une forme nouvelle que nous dédions à M. R.-Ph. Dollfus, auteur de la description originale du type pseudonéodiplostomidien.

La longueur totale des deux meilleurs exemplaires est comprise entre 6,57 et 6 mm. 76. Le segment antérieur (2,67-3,18/1,34-1 mm. 41) est largement lancéolé, plan ou légèrement concave, un peu moins long que le segment postérieur claviforme (3,39-3,60/0,81-1 mm. 02), qui s'insère à l'extrémité même de sa face dorsale, débute par un collet court et flexible, se dilate au niveau des testicules pour se rétrécir assez brusquement en arrière de ceux-ci.

Les mesures de la ventouse buccale et du pharynx (suivi d'un œsophage long de 100 à 110 μ), prises difficilement sur l'individu le mieux conservé, sont respectivement 53/55 μ et 48/34 μ . La ventouse ventrale, située au 1/3 (29-35/100) de la longueur du segment antérieur, est beaucoup plus grande ; ses diamètres atteignent 100-132/126-148 μ . Son bord postérieur est distant de 330 à 500 μ du front peu distinct de l'organe tribocytique, qui s'avance jusqu'au centre même du segment (48-53/100). Muni de papilles sur tout le pourtour de sa large ouverture, cet organe exceptionnellement développé mesure 960-1.200/600-800 μ . Autour de lui se concentrent les follicules vitellogènes qui, dès leur limite, à mi-distance entre son front

et la ventouse ventrale, envahissent toute la partie correspondante du corps, puis pénètrent sous forme de deux rubans latéraux dans le segment postérieur, où ils se terminent au niveau du premier testicule ou de l'espace intertesticulaire, siège du réservoir vitellin.

L'*ovaire*, ovoïde, situé entre les 24 et les 37/100 de la longueur du segment postérieur, mesure 190-270/300 μ . Les *testicules*, subsphériques ou ellipsoïdes et parfois comprimés suivant l'axe du corps, sont massifs et volumineux, ayant 650 μ de diamètre moyen, mais pouvant atteindre jusqu'à 900 μ dans le sens transversal, lorsqu'ils sont déformés par compression. Le bord postérieur du second se situe très en arrière, entre les 83 et les 86/100 de la longueur du segment. En arrière d'eux, on distingue la *vésicule séminale*. Les *œufs*, rares et plus ou moins collapsés, n'ont pu être mesurés.

Cette espèce rappelle *Pseudoneodiplostomum siamense* (Poirier, 1886), qui provient du même hôte ; mais ses dimensions très supérieures (celles de l'organe tribocytique notamment) suffisent à l'en séparer. Elle ressemble encore davantage à *P. crocodilarum* (Tubanguï et Masiluñgan, 1936) Tubanguï, 1947, trouvé chez un *Crocodilus porosus* Schneid. de l'île Palawan, aux Philippines. Elle s'en distingue pourtant par sa taille nettement plus grande, le fait que le segment postérieur est plus long que l'antérieur, la situation plus reculée de l'ovaire, l'hébergement par un hôte différent et, selon la plus grande probabilité, par une distribution géographique également différente. Nous la nommons *Pseudoneodiplostomum dollfusi* n. sp. en l'honneur de l'auteur de la seconde contribution française à l'étude des diplostomes de Crocodiliens.

2. « NEODIPLOSTOMA » sp. Dollfus, 1935

variété gabonaise de

PSEUDONEODIPLOSTOMUM THOMASI (Dollfus, 1935) Dubois, 1936

« *Neodiplostoma* » sp. fut récolté par R.-Ph. Dollfus dans l'intestin antérieur et l'estomac de trois *Crocodilus cataphractus* Cuv., rapportés de la région de Port-Gentil (Gabon) par Jean Thomas et autopsiés au Muséum d'Histoire naturelle de Paris, les 31 janvier (1 exemplaire), 16 février (plusieurs exemplaires) et 18 février 1931 (1 exemplaire). Dans chaque cas, les vers furent trouvés plus ou moins macérés.

La description originale est basée sur l'examen du premier spécimen récolté, « à peu près utilisable », mais dont la position oblique sur la lame, la coloration défectueuse et l'immaturité ont empêché l'auteur de le bien caractériser.

Quelle ne fut pas notre surprise de trouver, dans la collection de Strigéïdés que M. Dollfus nous confia pour détermination, un magnifique exemplaire provenant du lot recueilli le 16 février 1931 et dont la découverte est le prétexte de cette étude (1).

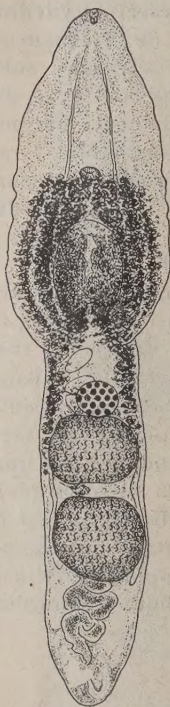


FIG. 2. — *Pseudoneodiplostomum thomasi gabonicum* nov. var. (syn. « *Neodiplostoma* » sp. Dollfus), de *Crocodylus cataphractus* Cuv. Longueur : 2 mm. 58.

Le ver a 2 mm. 58 de longueur. Le segment antérieur ovalaire, presque plan, mesure 1,23/0,63 mm. Le segment postérieur, un peu plus long et plus étroit, subcylindrique, inséré à l'extrémité de la face dorsale du précédent, atteint 1 mm. 35 de dimension longitudinale sur 0 mm. 42 de largeur.

La ventouse buccale, d'un diamètre de 55 μ , est moins développée que la ventouse ventrale, qui mesure 72/92 μ et se trouve située aux 47/100 du segment antérieur. Le pharynx est petit, mais bien musculueux ; ses dimensions sont 39/37 μ . Il n'y a pas de prépharynx. L'œsophage a 50 μ de long et les caeca se terminent au niveau du bord postérieur du second testicule. A 100 μ environ de la ventouse ventrale, c'est-à-dire aux 60/100 de la longueur du segment, se situe le front de l'organe tribocytique elliptique, qui mesure 360/230 μ .

L'ovaire, ellipsoïdal à globulaire, contigu au premier testicule, légèrement dévié à gauche de la ligne médiane et localisé aux 16/100 du segment postérieur, a 130/145 μ de diamètre. Les testicules, qui occupent presque toute la largeur de cette partie du corps, sont ovoïdes, à grand axe transversal (étant plus ou moins comprimés dans le sens longitudinal), et mesurent le premier 260/345 μ , le second 315/345 μ ; le bord postérieur du deuxième organe se trouve aux 2/3 de la longueur du segment. Plus en arrière, la vésicule séminale, sinueuse, décrit des méandres serrés avant de se déverser ventralement, par l'intermédiaire du ductus ejaculatorius, dans la paraprostate occupant l'axe d'un cône génital.

(1) Cet exemplaire ne fut pas à la disposition du descripteur.

tal appointi. Celui-ci, long de 100-110 μ à l'état de protraction, dans l'exemplaire ayant servi à la description originale, apparaît normalement rétracté sur les coupes (faites par nous) d'un spécimen du lot 16-2-1931, reçu de M. Dollfus. Il mesure 80 μ de hauteur et 45 μ de diamètre à sa base, au niveau de laquelle l'utérus débouche dans la bourse copulatrice excavée ventralement, de

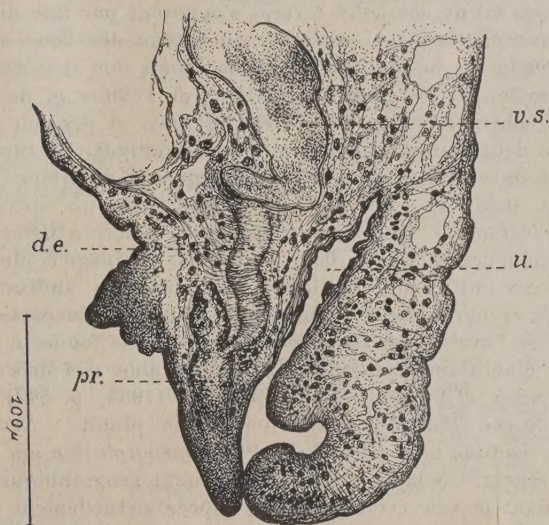


FIG. 3. — *Pseudoneodiplostomum thomasi gabonicum* nov. var. (syn. « *Neodiplostoma* » sp. Dollfus), de *Crocodilus cataphractus* Cuv. Coupe sagittale de l'extrémité postérieure du corps.

d.e., ductus ejaculatorius ; pr., prostate ; u., utérus ; v.s., vésicule séminale.

manière à constituer une cavité acétabuliforme. Les follicules *vitellogènes*, surtout accumulés autour de l'organe tribocytique, s'étendent de la hauteur de la ventouse ventrale au niveau de l'espace intertesticulaire, où siège le *réservoir vitellin*. Trois *œufs*, en parfait état, localisés dans les boucles utérines prétesticulaires, mesurent 118-120/68-74 μ .

Nous avons déjà eu l'occasion d'examiner deux exemplaires de ce trématode, obligeamment prêtés par M. Dollfus, ce qui nous avait permis d'en établir une diagnose sommaire (1938, p. 382), sans pouvoir toutefois l'identifier parfaitement et répondre à la question de son attribution générique.

Après ce second examen, nous ne pensons pas que « *Neodiplostoma* » sp. Dollfus représente une forme spécifique nouvelle. L'étude topographique des conduits génitaux permet de l'attribuer au genre *Pseudoneodiplostomum* Dubois. Parmi les espèces constituant cette unité systématique, *P. thomasi* Dollfus, 1935, s'en rapproche assez pour nécessiter une comparaison minutieuse des caractéristiques morphologiques (voir tableau ci-dessous). A égale longueur du corps, les deux formes s'opposent par une divergence significative des largeurs mesurées au niveau des deux segments, des diamètres de la ventouse ventrale (mais non pas de la ventouse buccale), de l'organe tribocytique, de l'ovaire et des testicules, par l'hébergement en des hôtes différents et par une distribution dans deux bassins hydrographiques contigus. Le rapport des longueurs du segment postérieur au segment antérieur s'inverse quand on passe de l'une à l'autre, sauf pour un spécimen de « *Neodiplostoma* » sp., observé par nous et fixé à l'état de contraction (longueur : 2 mm. 05). Toutefois, et jusqu'à plus ample informé, ces indices différentiels ne semblent pas suffisants pour motiver la reconnaissance d'une espèce nouvelle. En particulier, la situation de l'ovaire, sur laquelle on aurait pu se fonder à première vue pour établir une distinction, paraît instable, si l'on s'en réfère aux figures 5 et 6 publiées par Dollfus (1935, p. 642). Tenant compte de ces données, nous envisageons plutôt « *Neodiplostoma* » sp. comme une variété de *Pseudoneodiplostomum thomasi* Dollfus, ségrégée à la faveur d'un isolement géographique et s'engageant dans la voie évolutive d'une espèce virtuellement nouvelle. En raison de sa provenance, nous proposons de la nommer *P. thomasi gabonicum* nov. var. L'exemplaire-type est décrit et figuré dans ce travail.

Le genre *Pseudoneodiplostomum*, dont la diagnose (Dubois, 1938, p. 377) reste inchangée, comprend actuellement cinq espèces paléotropicales :

P. thomasi (Dollfus, 1935), Dubois, 1936, d'*Osteolæmus tetraspis* Cope [Moyen-Congo] ;

P. thomasi gabonicum nov. var., de *Crocodilus cataphractus* Cuv. [Gabon] ;

P. bifurcatum (Wedl, 1862) nov. comb. (syn. *Distoma bifurcatum* Wedl), de *Crocodilus vulgaris* Cuv. [Egypte] ;

P. siamense (Poirier, 1886), Dubois, 1936, de *Crocodilus siamensis* Schneid. [Asie] ;

P. crocodilarum (Tubangui et Masiluñgan, 1936) Tubangui, 1947, de *Crocodilus porosus* Schneid. [Philippines] ;

P. dollfusi n. sp., de *Crocodilus siamensis* Schneid. [Asie].

L'extension du genre nous oblige à établir une nouvelle clé de détermination :

TABLEAU COMPARATIF

	<i>Pseudoneodiplostomum thomasi</i> DOLLFUS, 1935		<i>P. thomasi gabonicum</i> nov. var. ² (« <i>Neodiplostoma</i> » sp)
	DOLLFUS	DUBOIS (1)	
Longueur totale ²	2,85 3,09 mm	2,46-2,93 mm	2,58-2,99 mm (2,05)
Long. segm. antér.....	1,56-1,96	1,47-1,80	1,23-1,41 (1,06)
» segm. postér.....	1,04-1,41	1,17-1,32	1,35-1,57 (0,99)
Rapport $\frac{\text{segm. postér.}}{\text{segm. antér.}}$	0,57-0,90	0,73-0,80	1,10-1,11 (0,93)
Larg. segm. antér.....	0,71-1,01 mm	0,96-1,17 mm	0,54-0,66 mm
» segm. postér.....	—	0,57-0,66	0,33-0,42
Diamètres :			
ventouse buccale.....	50-78/64-80 μ	73-79/72-79 μ	55-72/55-85 μ
pharynx.....	46-60/50-60	49-57/53-60	39-55/37-43
ventouse ventrale ³	96-105/105-120	106-113/120-134	72-84/91-96
organe tribocyt. ⁴	462-550/337-437	440-470/360-400	360/220-240
ovaire.....	—	150/185-235	95-130/125-145
testicule antér.....	—	290 440-550	260-345/300-345
testicule postér.....	—	315-325/440-595	315-370/320-345
œufs.....	108-126/62-86	108-130/64-72	100-120/68-82
Dans le segm. antér. :			
limite foll. vitell.....	—	42-44/100	43-49/100
ventouse ventrale.....	—	47-51/100	43-47/100
front org. tribocyt.....	—	55-59/100	60-64/100
Dans le segm. postér. :			
ovaire.....	—	10-13/100	16-22/100
bord post. 2 ^e testic.....	—	62-64/100	66-79/100
Hôte.....	<i>Osteolexmus tetraspis</i> Cope		<i>C. cataphractus</i> Cuv.
Distrib. géograph.....	Moyen-Congo		Gabon

(1) D'après 2 exemplaires différents de ceux que Dollfus observa.

(2) Les mesures prises sur l'exemplaire contracté figurent entre ().

(3) La valeur 68 μ , donnée par Dollfus, correspond à un écart trop grand ; elle concerne un individu atypique, dont on peut dire que la ventouse était contractée au maximum, et ne pourrait être incorporée à l'ensemble des mesures que pour le calcul d'une moyenne.

(4) Nous n'avons pas tenu compte de la valeur 0,030/0,30 mm., probablement inexacte, dont fait mention la description originale pour l'un des 4 individus montés *in toto* (Dollfus, 1935, p. 643).

1. Espèces africaines 2
- Espèces asiatiques 3
2. Cône génital peu développé (80-100 μ de hauteur), appointi et pro-
tractile, mais normalement abrité dans la bourse copulatrice :
 - a. segment antérieur plus long que le segment postérieur ; diamè-
tre de la ventouse ventrale $> 100 \mu$;
ovaire situé généralement à une petite distance ou même au
contact du bord postérieur du premier segment ;
Moyen-Congo *P. thomasi*
 - b. segment antérieur un peu plus court que le segment postérieur ;
diamètre de la ventouse ventrale $< 100 \mu$;
ovaire situé au $1/5$ de la longueur du segment postérieur ;
Gabon *P. thomasi gabonicum*
- Cône génital très développé (300/180 μ), claviforme, faisant plus ou
moins saillie hors de la bourse copulatrice (d'où l'apparence « bifur-
quée » de l'extrémité postérieure du corps).
Égypte *P. bifurcatum*
3. Longueur totale excédant 6,5 mm. Segment postérieur plus long que
l'antérieur *P. dollfusi*
- Longueur totale comprise entre 4 et 5 mm. Segment postérieur plus
court que l'antérieur 4
4. Pharynx un peu plus grand que la ventouse buccale ; organe tribocy-
tique long de $1/2$ mm. Asie *P. siamense*
- Pharynx un peu plus petit que la ventouse buccale ; organe tribocyti-
que atteignant 1 mm. de longueur (d'où situation de la ventouse
ventrale aux $35/100$ de la longueur du premier segment).
Philippines *P. crocodilarum*

3. CYSTODIPLOSTOMUM HOLLYI Dubois, 1936

Une autre préparation de la collection Dollfus groupait quatre exemplaires de *Cystodiplostomum hollyi* Dub., à divers degrés de développement, provenant du *Caiman latirostris* (Daud.) disséqué au Muséum d'Histoire naturelle de Paris (28/29 août 1931) et dont nous avons déjà examiné deux autres parasites de la même espèce. Comme la diagnose de celle-ci n'a été établie que sur l'étude de quatre spécimens, nous croyons utile d'indiquer ici les résultats de la mensuration des trois exemplaires mûrs.

Longueur totale : 2,76-3,75 mm.

Segment antérieur : 1,50-1,92/0,52-0,76 mm.

Segment postérieur : 1,11-1,83/0,33-0,51.

Rapport des longueurs (segm. postér./segm. antér.) : 0,67-0,96.

Diamètres :

Ventouse buccale, 58-72/58-86 μ ; pharynx, 48/43 (?) ; ventouse ventrale, 100-136/100-168 ; organe tribocytique, 315-370/225-300 ; ovaire, 70-115/110-160 ; testicule antérieur, 100-153/160-234 ; testicule postérieur, 100-162/180-248 ; œufs, 96-98/63-65 ; « capsule dorsale », 215-270/165-225.

Largeur de la paraprostate : 90 μ .

Distance du bord postérieur de la ventouse ventrale au bord antérieur de l'organe tribocytique : 360 μ .

Situation dans le segment antérieur :

De la ventouse ventrale, 40-45/100 ; de la limite des follicules vitellogènes, 44-46/100 ; du bord antérieur de l'organe tribocytique, 68-70/100.

Situation dans le segment postérieur :

De l'ovaire, 12-15/100 ; du bord postérieur du 2^e testicule, 37-43/100.

Quelques follicules vitellogènes épars pénètrent dans le début du segment postérieur, sans dépasser la zone du 1^{er} testicule.

BIBLIOGRAPHIE

1935. DOLLFUS (R.-Ph.). — Sur *Crocodilicola* et autres Hémistomes de Crocodiliens. *Arch. Muséum Hist. nat. Paris*, 6^e série, XII, p. 637-646, 7 fig.
1936. DUBOIS (G.). — Les Diplostomes de Reptiles (Trematoda : Proterodiplostomidæ nov. fam.) du Musée de Vienne. *Bull. Soc. neuch. Sci. nat.*, LXI, p. 5-80, 43 fig.
1938. DUBOIS (G.). — Monographie des Strigeida (Trematoda). *Mém. Soc. neuch. Sci. nat.*, VI, 535 p., 354 fig.
1886. POIRIER (J.). — Sur les Diplostomidæ. *Arch. Zool. expér. génér. Paris*, 2^e série, IV, p. 327-346 ; pl. 18-20.
1947. TUBANGUI (M.-A.). — A summary of the parasitic worms reported from the Philippines. *Philipp. J. Sci. Manila*, LXXVI, p. 225-322.
1936. TUBANGUI (M.-A.) et MASILUNGAN (V.-A.). — Trematode parasites of Philippine Vertebrates, VIII. Flukes from a Cobra and a Crocodile. *Philipp. J. Sci. Manila*, LXI, p. 255-263 ; 3 pl.
1862. WEDL (K.). — Zur Helminthenfauna Egyptens. *SitzBer. Akad. Wiss. Wien*, XLIV, p. 225-240, 463-482 ; pl. 1-2 et 1-3.

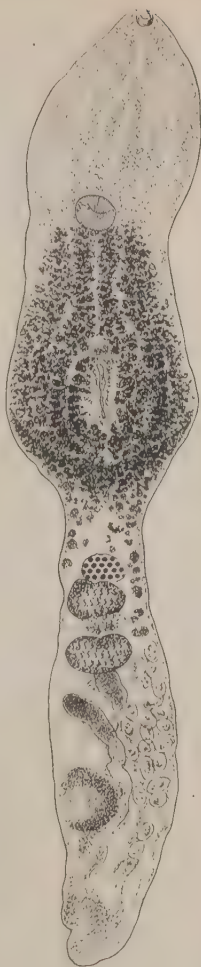


FIG. 4. — *Cystodiplostomum hollyi* Dubois, de *Caiman latirostris* (Daud.). Longueur : 3 mm. 75.

DISTOME ÉNIGMATIQUE DANS LA VÉSICULE BILIAIRE
DE LA TANCHE COMMUNE, *TINCA TINCA* (L.)
A RICHELIEU (INDRE-ET-LOIRE)

Par Robert-Ph. DOLLFUS

Description. — *Corps* à contour un peu fusiforme, environ trois fois aussi long que large (1 mm. $95 \times 0,65$), gardant à peu près la même largeur dans presque la moitié de sa longueur, plus atténué postérieurement qu'antérieurement, déprimé dorso-ventralement. *Ventouse orale* subterminale, globuleuse (diamètre 0,24). *Ventouse ventrale* à contour circulaire (diamètre 0,15), ayant son centre à l'union des deux premiers tiers du corps. *Cuticule* spinulée ; les spinules vont en se raréfiant en direction postérieure et disparaissent complètement au début du dernier septième de la longueur. *Pré-pharynx* nul, ou presque nul ; pharynx globuleux, un peu plus large que long (longitud. 0,107 ; transvers. 0,131). *Œsophage* extrêmement court. Les branches intestinales divergent transversalement, puis se coudent en direction postérieure et s'étendent jusqu'à l'extrémité postérieure du corps, laissant un petit espace entre leur bord externe et le bord latéral du corps.

Deux *testicules* de forme presque globuleuse, légèrement irrégulière, dans la seconde moitié de la longueur du corps ; l'antérieur situé un peu à gauche, ayant son bord antérieur à la limite de la mi-longueur du corps ; le postérieur situé un peu à droite, obliquement, ayant son centre au niveau de l'union des deux derniers tiers de la longueur du corps. *Vésicule séminale* sacciforme, très légèrement bipartite (faible constriction à la fin de son tiers antérieur), située obliquement au niveau de l'ovaire, du côté gauche ; il en part un canal éjaculateur courbé en C, longeant le bord gauche de l'acétabulum jusqu'au pore génital. Ce canal (diam. environ 19-20 μ) est pourvu d'une forte musculature circulaire ; je n'ai pas vu de cirre et je n'ai pas pu distinguer les cellules prostatiques, qui existent vraisemblablement.

Ovaire globuleux (diam. env. 0,16) immédiatement en arrière de l'acétabulum et un peu à droite. *Vitellogènes* constitués par de

nombreux follicules assez gros, s'étendant dans les quatre derniers cinquièmes de la longueur du corps, le long des branches intesti-

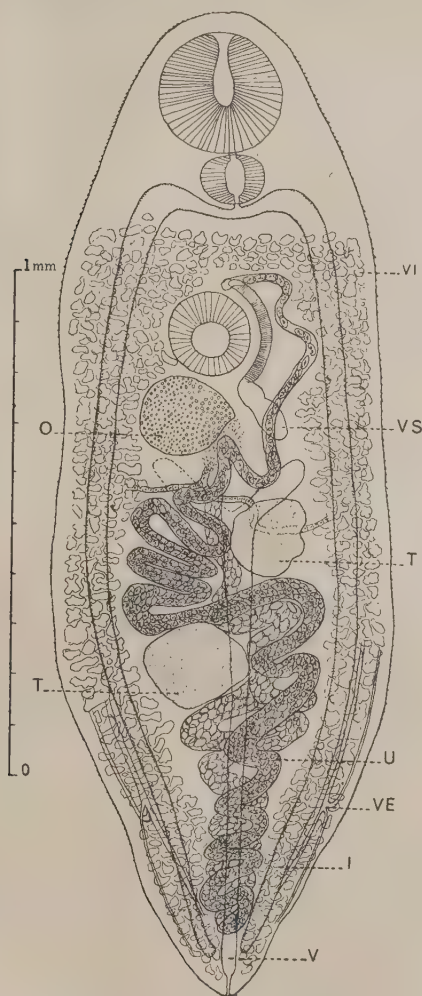


FIG. 1. — Distome de la vésicule biliaire de *Tinca tinca* (L.), Richelieu (Indre-et-Loire), 22-8-1943. Dessin sur le vivant.

I, intestin ; O, ovaire ; T, testicule ; U, utérus ; V, vessie excrétrice ; VE, vaisseau excréteur ; VI, vitellogènes ; VS, vésicule séminale

nales, en les dépassant en dehors et en dedans, passant transversalement d'un côté à l'autre du corps en avant de l'acétabulum. *Viteloducte transverse* au niveau de la mi-longueur du corps ; du côté gauche il passe dorsalement au testicule gauche, puis en avant de celui-ci. *Glande de Mehlis*, entre le testicule antérieur et l'ovaire. *Receptaculum seminis* et *canal de Laurer* non observés. L'*utérus* est complètement intercœcal ; sa partie descendante passe entre les testicules et s'étend presque jusqu'à l'extrémité postérieure du corps, sans cependant dépasser l'extrémité des cœca intestinaux. Les sinuosités ascendantes passent entre les testicules, puis entre les testicules et l'ovaire, ensuite à gauche de l'acétabulum, pour atteindre le pore génital, médian, situé presque immédiatement en avant du milieu du bord antérieur de l'acétabulum. Les *œufs*, ovales, à coque mince, très nombreux, mesurent $42-45 \times 23-24 \mu$. Vessie excrétrice tubuleuse, étroite, médiane s'étendant sur plus de la moitié de la longueur du corps, atteignant l'ovaire ; sa terminaison antérieure est probablement en Y à courtes branches.

Matériel examiné. — Un unique exemplaire trouvé dans la vésicule biliaire de *Tinca tinca* (L.) à Richelieu (Indre-et-Loire) (22 août 1943) au cours d'une dissection en collaboration avec Camille Desportes.

J'ai longuement examiné, sur le vivant, cet unique exemplaire, espérant voir les ampoules à flamme de son appareil excréteur ; je n'y ai pas réussi ; j'ai dû cesser cet examen lorsque l'animal a commencé à se désintégrer, il a alors été fixé dans de l'alcool-formol, coloré au carmin et monté dans le baume. En raison de l'état de l'individu lors de sa fixation, la préparation est plutôt médiocre. Plus de cent tanches de la même localité ont été examinées sans que ce Distome ait été retrouvé.

Discussion. — Peu d'espèces de distomes se trouvent, chez les poissons d'eau douce, dans la vésicule biliaire ; elles ne sont généralement pas particulières à la vésicule biliaire et se rencontrent aussi dans l'intestin (par exemple *Crepidostomum cooperi* S. H. Hopkins, 1931). Notre distome de la tanche est donc aussi à comparer avec ceux habitant le tube digestif de poissons d'eau douce. Par la topographie des organes : extension des cœca intestinaux jusqu'à l'extrémité postérieure, ovaire du côté gauche en avant des testicules, testicules obliquement l'un devant l'autre, utérus intercœcal atteignant presque l'extrémité postérieure du corps, pore génital médian, absence de couronne d'épines céphaliques, etc.,

notre distome rappelle un peu certaines espèces placées dans les genres *Macroderoides* A. S. Pearse 1924, *Plesiocreadinum* P. H. Winfield 1929, *Alloglossidium* P. H. Simer 1929, etc... et surtout *Astiotrema* A. Looss 1900 (1).

En dehors des distomes de poissons d'eau douce, une certaine ressemblance est offerte par divers distomes de batraciens — attribués aux genres *Glypthelmins* J. Stafford 1904, *Haplometra* A. Looss 1899, *Rudolphitrema* L. Travassos 1926, *Lepoderma* A. Looss 1899 (= *Plagiorchis* Max Lühe 1899) — et même de reptiles (par exemple *Microderma* H. R. Mehra 1931). Une ressemblance peut-être plus grande existe avec certains *Lepoderma-Plagiorchis* (d'oiseaux et de mammifères) du sous-genre *Multiglandularis* O. Ed. Schulz et A. A. Skwortzof 1931, où les vitellogènes présentent un pont transversal en avant de l'acétabulum. Une espèce à habitus très voisin — autant que la figure qui en a été publiée permet d'en juger — est *Plagiorchis* (*Multiglandularis*) *loossi* B. G. Massino (1929, p. 134-135, fig. 4) (2) de l'intestin grêle d'une pie-grièche *Lanius collurio* L. 1758, de l'embouchure du Don et d'un faucon émerillon, *Falco* (*Lithofalco*) *æsalon* Tunstall 1771, de Transbaïkalie.

Ces ressemblances, surtout la dernière, devaient être notées, cependant elles sont purement superficielles et il n'y a aucune possibilité d'attribuer le distome de la vésicule biliaire de la tanche à l'un des genres précités ou à des genres voisins.

L'absence de cirre s'oppose à l'admission dans les *Lepoderma-toidea-Plagiorchioidea*, comme dans les *Allocreadioidea*. Pour tenter une attribution systématique, il faudrait être certain de la forme de la vessie, or, je ne suis pas absolument certain qu'elle soit en Y ; je ne suis pas non plus certain de l'absence de *receptaculum seminis* et de canal de Laurer. Il faut attendre de pouvoir étudier d'autres matériaux pour une connaissance plus complète de l'anatomie ; je me contente donc de signaler ce distome à l'attention des chercheurs.

(1) Cependant, chez les *Astiotrema* à longs cæca (comme chez les *Glypthelmins* à longs cæca), l'utérus dépasse toujours postérieurement l'extrémité des cæca ce qui n'a pas lieu chez notre Distome de Tanche.

(2) *Zentralbl. für Bakt.*, II, Abt., LXXVIII, Heft 1/7, 27-5-1929.

UN CAS HUMAIN DE FASCIOLASE HÉPATIQUE

Par FERNANDO DA FONSECA et J. FRAGA DE AZEVEDO

Selon Brumpt, jusqu'en 1931, la littérature médicale signalait seulement 108 cas humains de fasciolase. Le même auteur en 1936 (*Précis de Parasitologie*, 5^e édition, 1936) s'occupe de travaux récents, montrant la fréquence relative de cette infection au Venezuela, en France, en Algérie, en Italie, en Arménie, au Turkestan, en Egypte, au Chili et en Argentine. Belding (*Textbook of Clinical Parasitology*, 1942) rapporte qu'au moins 130 cas ont été enregistrés dans la littérature médicale. Kouri (*Clinical Laboratory Methods and Diagnosis* : Gradwohl, London 1943) considère l'infection par *Fasciola hepatica* comme un problème de la plus grande importance à Cuba, où les 2 premiers cas autochtones ont été décrits par cet auteur et Arenas en 1931, et où, en avril 1942, le nombre de cas était déjà supérieur à 40.

Mackie, Hunter et Worth (*A Manual of Tropical Medicine prepared under the auspices of the Division of Medical Sciences of the National Research Council, Philadelphia and London, 1945*) ont présenté en 1945 le tableau suivant sur la distribution de la fasciolase humaine :

AFRIQUE :	EUROPE :	AMÉRIQUE :
Algérie.	Corse.	Argentine.
Soudan Français.	France.	Chili.
ASIE :	Italie.	Porto-Rico.
Chine.	Hongrie.	Cuba.
Turkestan.	Roumanie.	Vénézuéla.
ASIE MINEURE :	Salonique.	
Syrie.	Ecosse.	
Turquie.	U.R.S.S.	
AUSTRALIE :		
Queensland.		

Au Portugal continental et dans les îles adjacentes, nous ne connaissons pas de publications sur la fasciolose humaine. Notre malade, naturel du Funchal (île de Madère), nous a fait le récit suivant :

Observation. — 3-XI-1947. — A. V. F., 31 ans, marié, employé de commerce, habitant à Funchal, où il a toujours vécu. Il vient pour la première fois sur le continent.

Dans le passé il signale une fièvre typhoïde, une blennorrhagie et des chancres mous.

Il y a environ un an qu'il est sujet à des perturbations intestinales vagues, avec deux selles quotidiennes, une le matin et l'autre à une heure variable, quelquefois après le repas de midi. Les selles sont pâteuses et parfois liquides, sans mucosités, ni sang, ni lientérie.

Il se plaint de douleurs dans le dos, d'abattement, de nervosité, de transpirations nocturnes, et signale que parfois il dort mal. De temps en temps, il se sent l'estomac lourd, même après des repas légers. Habituellement il ne suit pas de régime et mange fréquemment du cresson et de la laitue crus. Il se sent plus mal quand il mange des fruits crus.

L'observation révèle un individu de type asthénique, un peu amaigri, le ventre ballonné. La langue est humide et légèrement pâteuse. Le ventre est douloureux au toucher, surtout le trajet du côlon. Le rebord du foie est en situation normale, un peu dur et douloureux. Les examens radiologiques faits à l'estomac et aux intestins ont révélé que la rate est augmentée de volume.

Ailleurs l'observation est négative.

12-XI-1947. — Depuis hier soir le malade présente aux mains, au cou et au ventre une éruption urticariforme accompagnée de prurit.

EXAMENS DE LABORATOIRE

Sang

EXAMEN CYTOLOGIQUE	11 - XI	17 - XI	26 - XI
Globules blancs par mm. ³ ...	8.100		8.100
Granulocytes neutrophiles...	36	38 5	25,5
— éosinophiles...	40,5	34,5	49,5
— basophiles.....	1,0	1,0	0,0
Lymphocytes	15,5	18,5	19,5
Monocytes	7,0	7,5	5,5
Globules rouges par mm. ³ ...	4.400.000		4.170.000
Hémoglobine (Sahli).....	86 p. 100		87 p. 100
Valeur globulaire	0,97		1,04

On n'a pas noté d'altérations appréciables dans la morphologie des globules rouges. Le pourcentage de réticulocytes déterminé le 26 novembre a été de 2,2 %.

Réactions de Wassermann et de Kahn : négatives.

Réaction de Hanger (céphaline-cholestérol) : après 24 heures : négative ; après 48 heures : très faiblement positive (+ — —).

Réaction de Takata-Ara : négative.

Selles : on a fait des examens microscopiques des selles les 19, 20, 22, 24 et 26 novembre. Les selles des 19 et 20 ont été recueillies au laboratoire et examinées immédiatement après leur émission dans l'étude de Foot à 37°. Leur examen a révélé des formes végétatives d'*Entamœba dysenteriae*. Dans tous les échantillons de selles examinés, se trouvent des œufs de *Fasciola hepatica*, *Ascaris lumbricoides* et *Trichocephalus dispar*.

Dans les selles recueillies le 25 novembre, on a procédé à la recherche des helminthes, après un sondage duodénal, mais le résultat a été négatif.

Bile : on a recueilli la bile à deux reprises (22 et 26 novembre), en procédant à un sondage duodénal avec sulfate de magnésium. On a toujours obtenu les trois types de bile A, B et C. L'examen du sédiment de centrifugation des trois échantillons a révélé des œufs de *Fasciola hepatica*, seulement dans la bile C recueillie le 25.

Examen radiologique de l'estomac, des intestins et de la rate : il montre une accélération de la circulation intestinale et une légère splénomégalie.

Diagnostic : l'infestation humaine par *Fasciola hepatica* se déroule le plus souvent avec une grande pauvreté de symptômes et ceux-ci orientent davantage le praticien vers la maladie gastro-intestinale. Le tableau habituel est celui des perturbations dyspeptiques gastriques : douleurs sur tout le trajet du côlon et crises alternées de constipation et de diarrhée. La symptomatologie hépato-biliaire, moins fréquente, va de la simple douleur sourde dans la région hépatique, avec irradiation dans le dos, jusqu'à la colique hépatique répétée avec ou sans ictère et parfois accompagnée de fièvre. Le déroulement, souvent chronique, amène chez certains malades des troubles mentaux. Quelques cas de Kouri, avant la découverte de leur nature parasitaire, ont été diagnostiqués : cholécystite, colique hépatique, ictère par obstruction, colique appendiculaire, ulcère duodénal, fièvre bilio-septique, hépatite amibienne aiguë et malaria.

Dans notre cas, l'éosinophilie a été le fil conducteur, car, étant

donné l'absence de symptômes qui aient pu permettre de penser aux maladies qui donnent le plus fréquemment un pourcentage si élevé d'éosinophiles, un examen des selles s'imposait, en vue d'éclaircir le problème. La crise d'urticaire observée chez notre malade est citée dans la fasciolase par plusieurs auteurs.

Le fait que nous avons trouvé des œufs caractéristiques dans plusieurs examens de selles, faits à quelques jours d'intervalle, ainsi que dans la bile C, recueillie par sondage duodénal, rend indubitable le diagnostic de l'infestation du foie par *Fasciola hepatica*. En vérité, on doit tenir compte que l'apparition d'œufs de cet helminthe dans les selles peut-être en relation avec l'ingestion de foie de mouton ou d'un autre animal (bœuf, porc, cheval, etc...) infecté par ce parasite. Les œufs trouvés correspondront, cependant, à un véritable parasitisme si, plusieurs jours avant l'examen des selles, le malade n'a pas consommé de foie d'un des animaux cités, et si la recherche est positive dans la bile et les échantillons de selles recueillis en des jours divers, comme il advint en notre cas. Nous devons rapporter aussi que les œufs trouvés étaient d'aspect typique : jaunâtres, ovoïdes, operculés, à coque mince, non embryonnés et ayant, par la mesure de 5 œufs, en moyenne $132 \mu \times 77 \mu$ (128 à $135 \mu \times 67$ à 81μ).

La seule présence, dans les selles du malade, de formes végétatives d'*Entamoeba dysenteriae* et d'œufs d'*Ascaris lumbricoides* et de *Trichocephalus dispar*, conduit évidemment au diagnostic d'infestation concomitante par ces parasites.

Mode d'infection : considérant que l'homme peut s'infecter avec la *Fasciola hepatica* seulement par l'ingestion de métacercaires qui, comme on le sait, peuvent se trouver soit adhérentes aux plantes aquatiques, soit libres dans l'eau même, et considérant que notre malade mangeait fréquemment du cresson, il est à présumer que cette plante aquatique a été le véhicule de la forme larvaire infectante. Etant donné que selon ses informations, cette plante aquatique est consommée fréquemment dans l'île de Madère, par sa population, il est à présumer que d'autres cas humains de *Fasciola hepatica* y surviennent. Ce soupçon justifie entièrement qu'une étude minutieuse de la question y soit faite, ce que nous recommandons à la Société portugaise de Biologie et aux médecins de Funchal.

Pour compléter l'étude de notre cas, nous tentons maintenant de provoquer l'évolution du parasite à partir des œufs éliminés avec

les selles. Si, à partir de ces œufs, nous réussissons à établir complètement le cycle de *Fasciola hepatica*, nous pourrions conclure que l'organisme humain n'a été en rien défavorable à sa vitalité, qu'il est par conséquent favorable à son évolution, ce qui revient à dire que l'homme, atteint par les métacercaires, a toutes chances de contracter l'infection par le parasite. Nous rendrons compte ultérieurement du résultat de nos investigations.

Traitement : parmi les divers médicaments conseillés pour la fasciolase, nous avons choisi le chlorhydrate d'émétine, mettant ainsi à profit également son action amibicide spécifique. Nous attendons le résultat de cette thérapeutique.

Institut de médecine tropicale de Lisbonne.

INFESTATION NATURELLE DES BATRACIENS ET REPTILES
PAR LES LARVES PLÉROCERCOÏDES
DE *DIPHYLLOBOTHRUM MANSONI* AU TONKIN

Par H. GALLIARD

L'existence des larves plérocercôïdes de *Diphyllobothrium manson*i chez les animaux du Tonkin est bien connue depuis les travaux effectués par différents auteurs sur la sparganose oculaire. En particulier, Houdemer, Doderô et Cornet ont donné la liste des mammifères, oiseaux, reptiles et batraciens trouvés infestés par eux.

Nous donnons ici les résultats de recherches destinées à établir

Mois	NOMBRE	+	—	% DES CAS POSI- TIFS
Novembre	14	2	12	
—	19	4	15	+ 18/100
Décembre	24	5	19	
—	12	0	12	
—	9	0	9	+ 11/100
Mars	12	10	2	
—	14	11	3	
—	21	18	3	
—	7	6	1	
—	2	2	0	
—	4	2	2	
—	5	3	2	+ 79/100
Mai	29	21	8	
—	20	13	7	
—	7	4	3	+ 68/100
Juillet	12	8	4	
—	13	11	2	
—	23	21	2	
	247	141	106	60/100

la fréquence du parasitisme chez les espèces les plus communément trouvées, ainsi que ses variations saisonnières.

Rana tigrina. — C'est l'espèce la plus parasitée. Nous avons établi des statistiques par saison.

Il est à remarquer que l'infestation naturelle est très variable au cours de l'année, presque nulle en hiver, forte au printemps, intense en été (1). Afin d'éviter une cause d'erreur due à une fréquence variable suivant la localité, les grenouilles ont été achetées aux mêmes marchés ou récoltées dans les mêmes gîtes des environs de Hanöi. Les résultats ont été absolument comparables.

Cette variation saisonnière a été observée également par Kobayashi à Formose : 4 % au début du printemps, 59,6 % en juin, août et septembre, 67 % en octobre et novembre.

On peut se demander à quoi sont dues ces variations. La longévité des batraciens est grande et, d'autre part, il ne semble pas qu'ils éliminent spontanément leurs parasites, même pendant l'hiver qui n'est, il est vrai, pas très rigoureux. Joyeux et Baer ont constaté que des grenouilles infestées par *S. ranarum* et maintenues tout l'hiver sous une couche de glace avaient conservé leurs parasites.

Nombre. — Le nombre des *Sparganum* trouvé chez chaque individu est également variable avec la saison. En novembre et décembre, 1 à 4 ; en mars, 2 à 6. En juillet, le nombre peut en être beaucoup plus grand. Il varie entre 8 et 76 (dans un cas). La moyenne est de 20.

Localisation. — La localisation la plus fréquente est la masse musculaire des cuisses. Elle ne manque jamais. Quand le parasitisme est très faible, elle est exclusive. La localisation dans la paroi abdominale vient en second lieu. Elle peut exister même chez les grenouilles peu parasitées.

Au fur et à mesure que le nombre des parasites augmente, les localisations s'étendent au thorax et au dos, comme le montre le tableau suivant (p. 25).

Un autre fait à remarquer, c'est que les localisations viscérales (larves de *Sparganum* en migration) ne se rencontrent pour ainsi dire jamais dans les conditions naturelles. Il s'agit donc toujours d'infestations déjà anciennes. Dans un seul cas, des larves furent trouvées dans la paroi gastrique, le mésentère, sur la capsule de

(1) D'après Casaux et Houdemer, 80 p. 100 des grenouilles sont infestées, mais les auteurs ne spécifient pas l'époque de l'année.

Glisson, dans la cavité péritonéale, les muscles des cuisses et de l'abdomen. Mais il s'agissait d'une infestation récente, car on trouva une grenouille entière dans l'estomac.

Dans un autre cas, la grenouille présentait à la surface de l'estomac et de la vessie, sous le péritoine, de nombreux kystes sphériques, jaunâtres, de 2 mm. environ, à peine adhérents à l'organe et qui renfermaient chacun une tête. Ces têtes étaient parfaitement viables, car elles infestèrent un chien (8 bothriocéphales de 30 à 40 cm. le 18^e jour).

NOMBRE DE PARASITES	CUISSES	PAROI ABDOMINALE	DOS	THORAX
1.....	1	—	—	—
2.....	2	—	—	—
3.....	2	—	1	—
8.....	6	2	—	—
10.....	7	—	3	—
11.....	2	5	—	—
13.....	10	1	1	1
14.....	7	4	3	—
35.....	28	4	2	1
76.....	40	15	10	5

AUTRES BATRACIENS

Rana limnocharis est, après *R. tigrina*, l'espèce la plus commune. Elle est souvent parasitée. Nous avons trouvé en mai 8 exemplaires sur 20 parasités. L'infestation est en général faible : 2 à 6 *Sparganum*, en moyenne 3. L'infestation est inégale, certains lots sont indemnes (14 exemplaires en mai).

Rana guntheri n'est pas parasitée. *Bufo melanostictus* n'a été trouvé parasité qu'une fois sur 16 exemplaires en mai.

REPTILES

Tropidonotus piscator est toujours infesté (15 exemplaires). Les *Sparganum* sont toujours nombreux sous la peau et dans le mésentère. Nous en avons trouvé jusqu'à 80 chez un seul individu.

Par contre, *Hypsirrhina enhydris* semble peu parasité (12 exemplaires en mai et en juin).

RÉSUMÉ

La fréquence et les variations saisonnières du parasitisme par les larves pléroceroïdes de *Diphyllbothrium mansonii* ont été recherchées chez certains batraciens et reptiles. Chez *Rana tigrina*, un taux d'infestation moyen annuel de 60 % a été trouvé. Ce taux est très variable suivant les saisons (2 % en décembre, 82 % en juillet). Le degré individuel d'infestation varie également avec la saison (maximum : 4 larves en décembre, 76 en juillet). La localisation des parasites varie aussi avec le degré d'infestation. Elle se fait dans tous les cas dans les muscles des cuisses et s'étend aux autres masses musculaires (paroi abdominale, dos, thorax), en cas d'infestation forte, la localisation viscérale ou péri-viscérale (larves en voie de migration) n'a été trouvée qu'une fois. Dans un seul cas, elle existait sous forme kystique.

Chez *Rana limnocharis* et surtout *Tropidonotus piscator* le parasitisme est fréquent.

BIBLIOGRAPHIE

- CASAUX et HOUEMER. — Note préliminaire sur les sparganoses humaines et animales au Tonkin. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1926.
- GALLIARD (H.) et NGU (D. V.). — Particularités du développement de *Diphyllbothrium mansonii* au Tonkin. *Ann. parasit.*, XXI, 1946, p. 294.
- HOUEMER, DODERO et CORNET. — Les sparganoses animales et la sparganose oculaire en Indochine. *Bull. Soc. Méd. Chir. Indochine*, 1933, p. 425.
- HOUEMER (E. F.). — *Recherches de parasitologie comparée indochinoise*. Le François, Paris, 1938.
- JOYEUX (Ch.) et BAER (J.). — Expériences sur les larves procercoides de *Diphyllbothrium mansonii*. *C.R. Soc. biol.*, CI, 1929, p. 294.
- KOBAYASHI (H.). — Studies on the development of *Diphyllbothrium mansonii* (6th report). *Jl. Med. Assoc. Formosa*, XXX, n° 4, 1931.

Faculté de Médecine et Pharmacie de Hanoï.

**QUELQUES CAS CURIEUX D'ANOMALIES,
OBSERVÉS CHEZ DES IXODIDÉS DES GENRES
RHIPICEPHALUS et *APONOMMA***

Par **J. A. TRAVASSOS SANTOS DIAS**

C'est par hasard que quelques tiques affectées d'anomalies se sont trouvées entre mes mains. Comme il ne s'agit pas seulement d'espèces, mais aussi d'un genre (*Aponomma*) chez lequel, à ma connaissance, on n'a pas signalé de monstruosité, je me suis décidé à rédiger ces notes, pour que ce fait soit connu. Les spécimens en question ont été récoltés dans le court espace de temps d'un peu plus d'un mois.

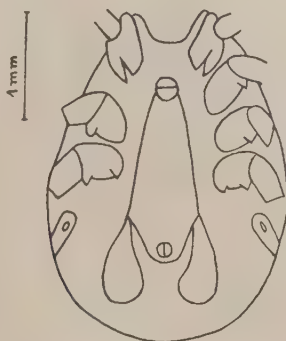


FIG. 1. — *Rhipicephalus enertsii* ♂.
Face ventrale, montrant l'absence de la 2^e patte du côté droit

1^{er} cas. — *Rhipicephalus enertsii* Neumann, 1899 ♂. Cet animal a été recueilli par moi sur un bovin de provenance inconnue, abattu à l'abattoir municipal de Lourenço Marques, pendant le mois d'août 1947. La malformation qu'il présente consiste uniquement dans l'absence de la 2^e patte du côté droit (fig. 1).

C'est la seconde fois que j'observe une pareille anomalie chez des ixodes de cette espèce. Le premier cas a été trouvé sur une

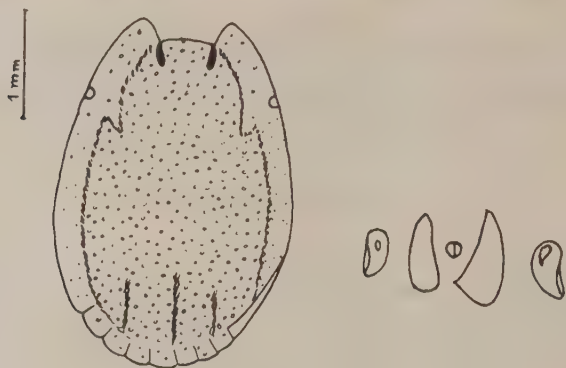


FIG. 2 — *Rhipicephalus ayrei* ♂. — A. Face dorsale montrant qu'il existe à peine 7 festons marginaux. B. Asymétrie des stigmates et des plaques anales

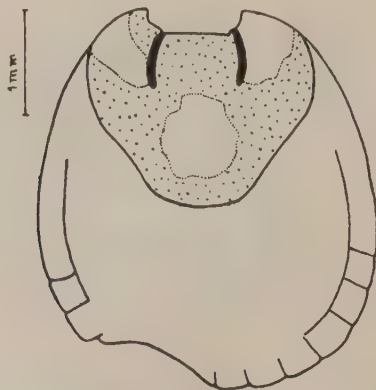


FIG. 3. — *Aponomma exornatum* ♀. — Exemple ayant à peine 8 festons marginaux

femelle, chez laquelle manquait la 3^e patte et du côté droit, comme dans le cas décrit ci-dessus.

2^e cas. — *Rhipicephalus ayrei* Lewis, 1933 ♂. Cette tique m'a été envoyée par mon collègue le D^r F. de Pinho Moyado, directeur du

poste zootechnique d'Angonia. Elle a été récoltée sur un bovin par

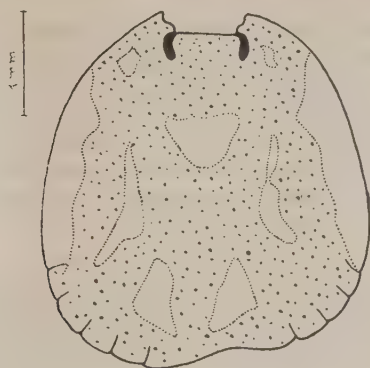


FIG. 4. — *Aponomma exornatum* ♂. — Exemple ayant à peine 7 festons marginaux

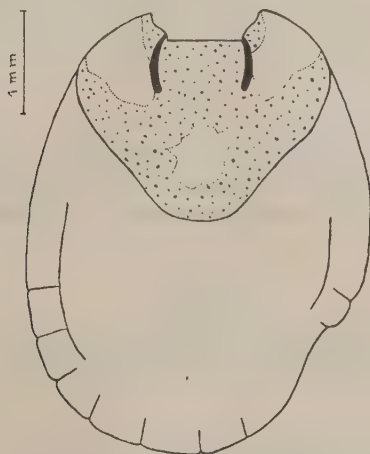


FIG. 5. — *Aponomma exornatum* ♀. — Exemple ayant à peine 7 festons marginaux

le préposé au poste, Sr. João V. A. Jorge, pendant la période du 11 au 13 septembre 1947.

Sur ce spécimen, on constate l'existence d'à peine sept festons

marginiaux, avec une certaine asymétrie des stigmates et des plaques anales des deux côtés (fig. 2).

3° cas. — *Aponomma exornatum* (Kodh 1844) ♀. Cet exemplaire faisait partie d'un lot de quelques dizaines de tiques récoltées par moi-même sur un *Varanus niloticus*, tué à Moamba (district de Gaza) le 25 septembre 1947.

Il est intéressant de noter, sur cet exemplaire, l'existence d'à peine huit festons marginaux. Le bord postérieur du corps présente un profond sinus à gauche, précisément à la place où devraient se trouver les festons 3, 4 et 5 (fig. 3).

4° cas. — *Aponomma exornatum* (Koch 1844) ♂. Tique appartenant au même lot que le cas précédent. Chez ce mâle, on constate également un certain retrait du bord postérieur, avec absence de quelques festons (on en voit à peine sept) (fig. 4).

5° cas. — *Aponomma exornatum* (Koch 1844) ♀. Cette femelle, de même provenance que les deux exemplaires précédents, présente également une certaine déformation du corps, dans sa portion postéro-latérale droite. Il y a à peine sept festons marginaux (fig. 5).

RÉSUMÉ

Cette note a pour but de signaler l'apparition de quelques anomalies, observées sur des tiques, et, probablement pour la première fois, la tératologie du genre *Aponomma* (*A. exornatum*) et du *Rhipicephalus ayrei*.

BIBLIOGRAPHIE

Dias (J. A. Travassos Santos). — Anomalias nos Ixodideos. Subsidios para o seu estudo. *Documentario Moçambique*, n° 51, 1947, p. 5-30.

Mission de lutte contre les trypanosomoses
1^{er} Secteur vétérinaire, Maputo, Mozambique

HYALOMMA BRUMPTI DELPY 1946

DESCRIPTION DE LA LARVE ET DE LA NYMPHE. BIOLOGIE

Par R. ROUSSELOT

HISTORIQUE

En janvier 1946, L.-P. Delpy (1), dédie au Prof. Brumpt cette espèce dont il a trouvé des mâles dans les collections du Muséum d'Histoire Naturelle de Paris et dans celles du Prof. Brumpt en 1936, puis des mâles et des femelles en 1939 au laboratoire du Prof. Brumpt, ces derniers exemplaires provenant d'un élevage réalisé au laboratoire à partir d'une femelle gorgée sur bœuf au Cameroun.

En proposant cette espèce, L.-P. Delpy, fidèle à sa méthode de détermination biologique, fait des réserves basées sur le fait que n'ayant jamais possédé que des exemplaires tués, il n'a pu réaliser d'élevages.

Ayant pratiqué des élevages de cette espèce au Soudan dès 1942, je suis en mesure de compléter la description morphologique et de fournir les caractéristiques biologiques validant cette nouvelle espèce.

SYSTÉMATIQUE

I. Mâles

N'utilisant pas tout à fait le même critère que Delpy, je séparerai *H. brumpti* des deux autres *Hyalomma* du Soudan : *H. savignyi* et *H. impressum*, de la façon suivante :

La parallèle à l'axe du corps, tangente au bord externe des écussons sub-anaux, coupe les accessoires ou passe à leur voisinage immédiat. Parma jaunâtre rarement brune. Pointe interne sub-anales aux écussons adanaux *H. brumpti* (Fig. 1).

(1) L.-P. DELPY. — Révision par des voies expérimentales du genre *Hyalomma* C. L. Koch 1844. Note préliminaire. *Archives de l'Institut vétérinaire d'Essaïrek*, II, 1946. — *Ann. de Parasitologie*, XXI, 1946, 267-293.

La parallèle à l'axe du corps, tangente au bord externe des écussons sub-anaux, laisse les écussons accessoires très en dehors. Parma toujours noire. Pas de pointe interne sub-anales aux adanaux *H. savignyi* et *H. impressum* (Fig. 2).

Autrement dit, Delpy définit la position des sub-anaux par rapport aux adanaux, alors que je définis la position des sub-anaux par rapport aux accessoires. J'ai préféré ce caractère, parce que l'écart que j'invoque est plus grand, donc plus aisément perceptible.

2. Femelles

Je ne vois pas de moyen sûr de différencier les femelles autre que l'élevage.

3. Larves

Les larves des trois espèces soudanaises sont aisément différenciables en tenant compte de deux caractères :

La forme du bord postérieur du scutum.

La disposition des quatre fossettes pilifères postérieures.

Hyalomma brumpti : Bord postérieur du scutum presque droit.

Quatre fossettes pilifères postérieures disposées sur un arc à forte convexité antérieure. Les fossettes antérieures manquent (Fig. 3).

Hyalomma savignyi : Le bord postérieur du scutum, convexe dans sa ligne générale, a des bords post-oculaires concaves. Fossettes antérieures présentes. Fossettes postérieures disposées sur un arc légèrement convexe en avant (Fig. 4).

Hyalomma impressum : Bord postérieur de l'écusson dorsal très convexe, à bords post-oculaires sensiblement droits. Fossettes pilifères antérieures présentes. Fossettes pilifères postérieures disposées sur un arc à convexité postérieure, ou au moins sur une ligne droite (Fig. 5).

4. Nymphes

Chez les nymphes, il est possible de faire la diagnose différentielle entre *Hyalomma impressum* d'une part, *Hyalomma savignyi* et *Hyalomma brumpti* d'autre part. Les deux dernières ont la base du capitulum triangulaire avec des angles latéraux très aigus (Fig. 6 et 7) ; chez la première la base du capitulum est losangique avec des angles latéraux arrondis (Fig. 8).

La disposition du bord postérieur du scutum, dont j'ai parlé chez les larves hexapodes, tend à se répéter chez les nymphes, mais elle est moins nette chez ces dernières dans la plupart des cas (Fig. 6, 7, 8).

Morphologie de *Hyalomma brumpti*

Mâle. — Macroscopiquement, c'est une tique brun rouge d'assez grande taille, — 6 mm. en moyenne, — à pattes annelées, d'aspect général clair. L'écusson dorsal est orné de ponctuations fines nombreuses, — sauf le milieu du dos d'âne qui est lisse, — et de

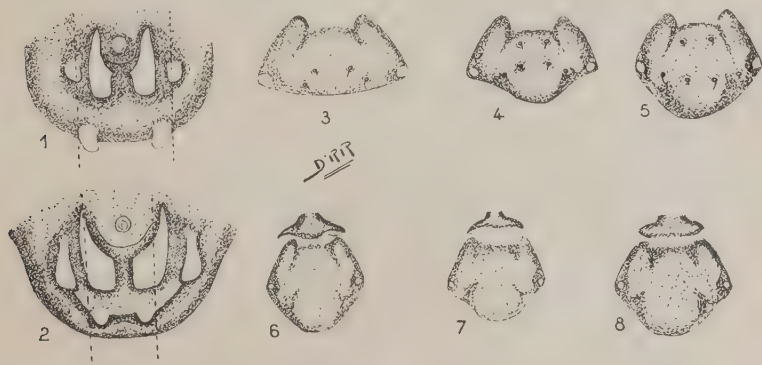


FIG. — *Hyalomma brumpti* Delpy, 1946 ; *H. savignyi* (2, 4, 7) et *H. impressum* (2, 5, 8).

ponctuations grosses et peu nombreuses qui sont réparties à la périphérie. Pas de sillon marginal ou une simple indication postérieure. Sillons cervicaux longs. Sillon postéro-médian bien marqué, flanqué de paramédians courts et larges. Les trois festons externes sont réunis en une masse peu ponctuée. Le feston médian, ou parma, est blanc jaunâtre, sauf chez de rares exemplaires où il peut être brun roux. En principe, il n'y a pas de pont complet réunissant par devant la parma les deux festons paramédians, mais on en trouve fréquemment une ébauche. Dessous blanc jaunâtre clair orné de soies courtes. Les écussons adanauaux ont le bord externe courbe, leur partie antérieure mince. Le bord interne dessine, dans sa partie postérieure, une pointe fine sub-anale. Les écussons sub-anauaux sont très écartés, d'où le caractère majeur signalé dans la clé, pour séparer cette espèce des *Hyalomma savignyi* et *impressum*.

Femelle. — Les exemplaires moyens dépassent gorgés 22 mm. et en atteignent parfois 30. L'écusson dorsal ressemble étroitement à celui de *Hyalomma impressum*.

Nymphe. — La nymphe à jeun mesure 1 mm. 9 sur 900 μ en moyenne. Le corps est allongé, élargi en arrière. L'écusson dorsal, plus long que large, est pentagonal. Les bords post-oculaires sont sensiblement droits.

Larve. — Mesure à jeun 680 μ sur 400 μ en moyenne. Le bord postérieur de l'écusson dorsal est presque droit. Cet écusson porte quatre fossettes pilifères postérieures disposées sur un arc à convexité antérieure. Les fossettes pilifères antérieures manquent.

Biologie

Evolution. — Tique à trois hôtes.

Hôtes. — Dromadaire, bœuf, zébu, mouton, chèvre.

Localisation. — Anus, mamelles, plis inguinaux, toupillon.

Distribution géographique. — J'ai eu des exemplaires de Bamako, Ségou, Tombouctou, Gao au Soudan, Bouaké en Côte-d'Ivoire. Existerait au Tchad.

Elevage. — J'ai noté au Soudan des incubations de 27 jours en mai, 27 et 30 jours en juin, 32 jours en septembre. Un élevage réalisé en juin a donné les temps suivants :

Incubation	30	jours	
Repas larve	8	—	
Sommeil larve	8	—	Soit un cycle total (durée corrigée)
Repas nymphe	5	—	
Sommeil nymphe	22	—	de 89 jours.
Repas adulte	7	—	
Gestation	9	—	

Service zootechnique et des épizooties, Brazzaville
Afrique équatoriale française

SARCOPTIDES PLUMICOLES DES OISEAUX DU MAROC

Par Jean GAUD et M.-L. PETITOT

L'étude des sarcoptidés plumicoles ou *Analgesidae* est à peu près délaissée depuis les travaux, déjà anciens, de Trouessart. L'examen de ces acariens ectoparasites mériterait d'être repris. A. Bonnet et J. Timon David exprimaient cette opinion dans un mémoire paru ici même (1). Ils envisageaient l'intérêt de leur répartition biogéographique, les singularités certaines de leur cycle évolutif (P. Mégnin, 1874), leur rôle inoculateur probable chez les oiseaux.

Cette dernière suggestion avait éveillé notre intérêt. Nous avons espéré, en particulier, trouver parmi les analgésidés les hôtes intermédiaires de quelques-uns des nombreux cestodes aviaires dont le cycle est encore inconnu. Dans cet esprit nous avons examiné, tant au Maroc qu'en Indochine, un grand nombre de ces acariens recueillis sur divers oiseaux. Cette recherche, disons-le tout de suite, a été négative. Les formes larvaires de cestodes sont extrêmement rares si, toutefois, elles se rencontrent, à l'intérieur des sarcoptidés plumicoles. Sur plus d'un millier d'analgésidés, recueillis sur des oiseaux porteurs de cestodes et examinés avec soin, nous avons seulement trouvé deux images pouvant, à la rigueur, évoquer la présence d'un organisme enkysté. La nature exacte de ces inclusions n'a pu être précisée.

Ce résultat négatif, non concluant, ne mériterait pas publication. Mais, au cours de nos recherches, nous avons acquis quelque expérience sur la récolte et la manipulation de ces petits acariens. Cette expérience peut être utile à un chercheur désireux de poursuivre des études sur les parasites plumicoles.

Par ailleurs, la distribution des différentes espèces d'analgésidés parmi les groupements aviaires pose d'intéressants problèmes concernant la spécificité parasitaire, ainsi que la phylétique ornithologique elle-même (M. André, 1938).

Nous croyons intéressant, à ce titre, de signaler les espèces

(1) Ces *Annales*, XI, 1934, 257.

d'analgésidés rencontrés au Maroc, avec indication des hôtes chez qui ils ont été recueillis.

I. TECHNIQUES

A. Récolte. — Le plus fréquemment, en ce qui concerne les oiseaux sauvages, c'est sur l'animal mort que l'on doit rechercher les analgésidés. Plusieurs cas peuvent se présenter.

1. *Oiseau tué fraîchement.* — A moins que l'on ne désire avoir les parasites plumicoles vivants, le meilleur et le seul moyen d'obtenir toute la faune d'un oiseau est de le dépouiller immédiatement et d'immerger la peau dans un bocal fermé rempli d'alcool à 70°. Au bout de 24 heures au moins de séjour, on agite fortement et longtemps le bocal et on vide l'alcool dans un verre conique. Les parasites plumicoles se rassemblent assez vite au fond. Quelques mouvements de rotation imprimés au verre facilitent cette sédimentation.

Lorsque les oiseaux sont tués par des pourvoyeurs lointains, sur les compétences ornithologiques desquels le doute est permis, il peut être plus commode de se faire envoyer les peaux sèches dans un récipient fermant parfaitement. L'identification de l'oiseau est plus facile. Un lavage à l'alcool à 70° des parois du récipient ayant servi à l'envoi permet de récupérer les parasites ayant quitté la peau.

Ce procédé de « détrempe » des peaux immédiatement isolées est le seul qui permette d'obtenir les parasites prédateurs peu abondants sur l'oiseau (*Dermanyssus*, larves d'*Ixodidés* et de *Thrombididés*).

Si l'on désire éviter la mise en peau, on pourra recueillir un assez grand nombre des parasites en sectionnant seulement les deux ailes et en opérant sur elles. Les rémiges contiennent, en effet, la majeure partie des analgésidés.

Si on désire recueillir les parasites vivants, il faut faire les lavages de la peau, des ailes ou des bocaux à l'eau. Il est alors presque indispensable d'abaisser la tension superficielle de celle-ci (par l'addition de taurocholate de soude p. ex.). Faute de cette précaution, les sarcoptidés ne sont pas mouillés. Un grand nombre demeure sur les parois. Ceux qui sont entraînés flottent sur la surface de l'eau, ce qui rend difficile leur concentration.

2. *Oiseau mort depuis quelque temps.* — Inutile de rechercher les analgésidés chez un oiseau mort depuis longtemps et aban-

donné dans la nature. Ces petits acariens ont déjà été dévorés par divers insectes et acariens prédateurs ou détriticoles (fourmis, ploques, tyroglyphes, glycephages, syringophiles, etc...). Ce sont ces prédateurs qui seront trouvés dans les plumes des oiseaux abandonnés trop longtemps et non les vrais parasites.

Si l'oiseau est mort depuis quelques heures, deux à douze ou même plus, mais a été protégé contre les prédateurs, les sarcoptides plumicoles se sont rassemblés dans les plumes de la tête et du cou (1). Inutile donc de détacher les ailes. Si on désire éviter la mise en peau, le mieux sera de prélever les plumes de la tête et du cou et d'en garnir un tube de verre de taille appropriée en les tassant modérément. Le tube sera bouché avec un bouchon de liège peu serré ou, mieux, avec un capuchon de soie à bluter bien ajusté. Au bout de 24 à 48 heures, tous les analgésidés vivants se concentrent dans les plumes superficielles. Ils paraissent rester vivants très longtemps, à la température du laboratoire, dans ces conditions ; un mois, parfois deux mois, si l'humidité atmosphérique est forte. Beaucoup de nymphes ont ainsi le temps d'évoluer en acariens adultes (2). Lorsqu'on veut prélever les analgésidés ainsi concentrés, prendre à la pince les plumes dont le duvet inférieur porte les acariens et les agiter dans un liquide (alcool à 70° ou eau « mouillante »).

3. *Oiseaux vivants.* Le meilleur moyen, encore très imparfait, est de poudrer avec un insecticide (D.D.T., H.C.H.) les plumes de l'oiseau et de mettre celui-ci dans une cage, plancher plein retiré, placée au-dessus d'un plateau garni d'alcool à 70°. On recueille les parasites morts dans cet alcool au bout de 24 heures.

Si on désire recueillir des parasites vivants, couper les rémiges ou les arracher (3) et les laver à l'eau « mouillante ».

B. Manipulations. — Pour repêcher les analgésidés dans le bain qui a servi à les réunir, le mieux est d'opérer avec un compte-gouttes très effilé sous contrôle d'une loupe binoculaire. Le liquide contenant les acariens sera versé dans un grand verre de montre. Un

(1) Dans le cas d'oiseaux d'espèces différentes ayant demeuré quelques heures en contact étroit (dans une gibecière par exemple), il est souvent impossible d'affirmer que tel acarien provient de tel hôte.

(2) L'élevage serait peut-être réalisable dans ces conditions. Le difficile est d'être sûr que les plumes nouvelles données pour l'alimentation ne contiennent pas elles-mêmes des acariens.

(3) Cette dernière solution, qui paraît barbare, est souvent préférable pour l'oiseau. Les rémiges repoussent aussitôt après arrachement. Après section, au contraire, l'oiseau reste incapable de voler pendant des mois.

mouvement de balancement circulaire, rapide et de faible amplitude, imprimé à ce verre de montre, ramènera très rapidement tous les acariens en son centre.

Pour garder les analgésidés une fois triés, on peut utiliser des tronçons de verre à pipette de 8 cm. de long, fermés à leur extrémité inférieure par un diaphragme de soie à bluter. Les acariens sont « crachés » dans ces petits tubes par le compte-gouttes qui a servi à les trier. S'il s'agit d'animaux morts, le ou les tubes destinés à les recueillir seront immergés dans l'alcool à 70° garnissant une conserve de Borel sur les deux tiers de sa hauteur. L'étiquette, s'il y a lieu, sera roulée et introduite dans la partie supérieure du petit tube. Pour un transport éventuel, un petit bouchon empêche les fuites ou les mélanges d'acariens.

S'il s'agit d'animaux vivants, le petit tube sera immergé dans de l'eau additionnée d'un produit mouillant pendant le temps du triage. En fin d'opération, le petit tube est retiré. Un séchage sommaire est pratiqué en apposant le diaphragme de soie à bluter contre un papier buvard. Le tube est alors bouché.

Pour un élevage éventuel, des tubes de ce principe mais d'un calibre plus fort pourraient être utilisés.

Ces petits tubes sont très pratiques pour transporter les acariens de liquide en liquide, pour les déshydratations par exemple. Le montage au baume donne en effet les préparations les plus jolies et les plus solides. Aucun éclaircissement préalable n'est nécessaire. Si l'on désire se dispenser des manipulations requises par le montage au baume, la gomme au chloral de Faure peut aussi être employée. La gomme de Berlèse éclaircit trop les petites espèces peu chitinisées.

II. ESPÈCES RENCONTRÉES

A. Pterolichinæ. — Dans cette sous-famille les pattes antérieures sont inermes. Les femelles ont l'abdomen entier et sont pourvues d'une plaque chitineuse notogastrique. Treize espèces ont été identifiées par nous au Maroc appartenant à cette sous-famille.

Genre Falculifer. — Caractérisé par le grand développement des pattes antérieures chez les mâles hétéromorphes (Trouessart, 1886). Ce genre est inféodé aux columbiformes.

Falculifer rostratus Buchholz a été récolté sur *Streptopelia turtur arenicola* et chez *Columba palumbus*. Ce parasite est fréquent au Maroc chez le pigeon domestique.

Genre **Freyana**. — Caractérisé par un corps orbiculaire et l'insertion infère des pattes postérieures.

F. anatina Koch, parasite fréquent des anatides domestiques ou sauvages, a été trouvé sur *Anas crecca*.

F. pelargica Megnin et Trouessart, parasite de diverses cicognes de l'ancien monde, a été retrouvé sur *Ciconia ciconia*.

Genre **Pterolichus**. — Cinq espèces du genre type de la sous-famille ont été identifiées.

P. charadrii Canestrini, sur *Charadrius dubius*.

P. delibatus Robin et Mégnin, sur *Corvus corax tingitanus*.

P. securiger Robin et Mégnin, sur *Apus pallidus*.

P. vanelli Canestrini, sur *Vanellus vanellus*.

P. xiphiurus, sur *Glareola pratincola*.

Chacune de ces espèces se trouve ici chez un hôte classique ou très voisin de l'hôte normal.

Genre **Syringobia**. — Corps allongé, sillon thoracique très profondément marqué. Les animaux appartenant à ce genre vivent non sur les plumes, mais dans les tuyaux creux de celles-ci, rémiges surtout.

S. tricalcarata Trouessart a été trouvé sur *Charadrius dubius*.

Genre **Xoloptes**. — Caractérisé par un développement anormal de la VI^e paire de pattes chez le mâle.

X. claudicans Robin et Megnin a été récolté sur *Alectoris barbara*.

Genre **Pteronyssus**. — Les mâles présentent un développement remarquable de la III^e paire de pattes, ce qui les rapproche des espèces appartenant à la sous-famille suivante, dans laquelle le genre *Pteronyssus* a été classé parfois. Mais les pattes antérieures sont inermes chez les *Pteronyssus*, alors qu'elles sont armées chez les *Analgesinæ*. Trois espèces ont été identifiées :

P. infuscatus Trouessart, chez *Hirundo rustica*.

P. nuntiæveris Berlèse, chez le même hôte (Pl. II c).

P. striatus Robin, chez *Fringilla spodiogenys*.

Ces hôtes sont classiques pour les trois espèces.

B. Analgesinæ. — Cette sous-famille se caractérise par la présence de mâles hétéromorphes, différant des femelles par le grand développement d'une ou de deux paires de pattes postérieures. Les femelles ont l'abdomen entier et sont généralement dépourvues de plaque notogastrique. Les pattes antérieures sont armées dans les

deux sexes. Nous avons identifié neuf espèces appartenant à cette sous-famille.

Genre **Analges**. — La troisième paire de pattes du mâle, très hypertrophiée, ne porte pas d'ambulacre.

A. chelopus Hermann a été trouvé régulièrement sur *Passer domesticus tingitanus*. Seuls, trois moineaux capturés en hiver dans le Maroc présaharien n'étaient pas parasités. Le moineau est hôte normal pour cet acarien que nous avons aussi rencontré, mais très accidentellement, sur le chardonneret et sur le cini.

Sur *Sylvia atricapilla*, nous avons régulièrement trouvé une variété d'*A. chelopus*, véritable caricature du type. La troisième paire de pattes est encore plus largement hypertrophiée. Son troisième article présente une large encoche à la partie antérieure du bord externe et les dents du bord interne sont longues et très espacées l'une de l'autre. Le tubercule latéral qui se devine sur le flanc d'*A. chelopus*, en avant de l'insertion de la troisième paire de pattes, se transforme chez la variété en un long couteau atteignant l'extrémité supérieure du deuxième article de la troisième patte.

La révision des espèces européennes voisines ou synonymes d'*A. chelopus* (*A. clavipes*, *A. coleopteroides*, *A. fringillarum*, *A. incertus*, *A. nitzschii*, *A. spiniger*) étant encore à faire (Trouessart, 1886), nous nous bornons à donner une photographie du mâle hétéromorphe de la variété (Pl. II a) et une du mâle hétéromorphe du type (Pl. II b) pour illustrer les différences.

C'est encore à une variété d'*A. chelopus*, qu'il faut sans doute rapporter quelques acariens trouvés chez un *Phylloscopus* sp.

A. (Analgopsis) passerinus (L.), parasite des fringillidés, a été trouvé chez *Carduelis carduelis*, *Carduelis cannabina*, *Fringilla spodiogenys africana*, *Serinus canaria* (Pl. I). Nous l'avons aussi observé chez un turdidé : *Saxicola torquata*.

C'est encore à *A. passerinus* que nous rapportons de rares *Analges* récoltés sur *Anthus trivialis* (et non à *A. tridentatus*, décrit des alaudidés et retrouvé par nous sur *Anthus richardi*, en Indochine).

C'est en revanche à *A. tridentatus*, que nous rapportons quelques acariens récoltés sur *Sturnus vulgaris*.

Genre **Megninia**. — La troisième paire de pattes du mâle, très hypertrophiée, porte un ambulacre. Le tarse de la quatrième patte est normal.

Quatre espèces ont été identifiées :

M. æstivalis Berlèse, chez *Apus pallidus brehmorum*.



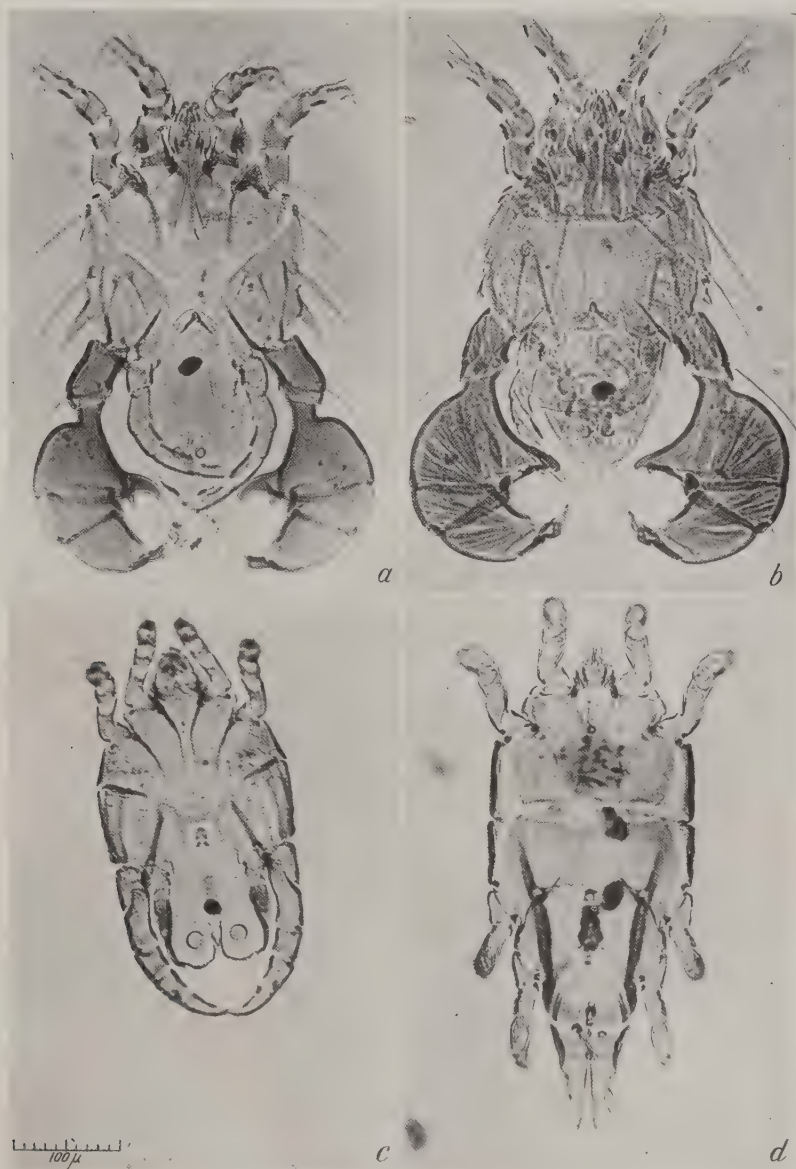
PLANCHE I

Analgopsis (Analgopsis) passerinus (L.).

MASSON ET C^{ie}, EDITEURS

PLANCHE II

- a. *Analges chelopus* Hermann. — Mâle hétéromorphe de la variété.
b. *Analges chelopus* Hermann. — Mâle hétéromorphe du type.
c. *Pteronyssus nuntiæveris* Berlèse.
d. *Trouessartia minutipes* Berlèse.
-
-



M. centropoda Mégnin, chez *Vanellus vanellus*.

M. columbae Buchholz, chez *Columba livia*, *Columba palumbus*, *Streptopelia turtur arenicola*.

Nous avons récolté aussi cette dernière espèce chez une *Sylvia simplex* trouvée morte depuis peu. *M. columbae*, trop abondant pour y être accidentel, y voisinait avec *Pterophagus strictus*, autre parasite normal des columbiformes.

M. tetraonis Trouessart a été trouvé sur *Alectoris barbara*. Chez *Parus caeruleus* enfin, nous avons trouvé deux exemplaires d'une *Megninia* voisine de *M. megacentros* (fig. 1, A et B).

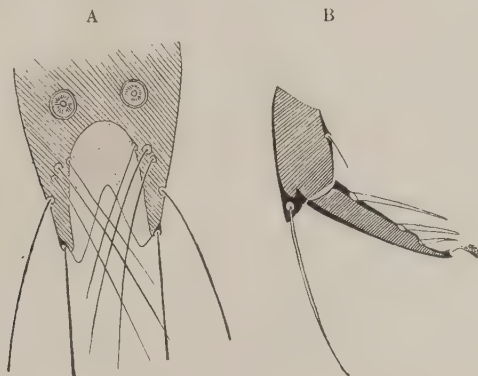


FIG. 1. — A. Extrémité abdominale du mâle chez *Megninia* de *Parus caeruleus*.
B. Extrémité d'une patte de la 3^e paire chez le même.

Genre **Mesalges**. — Comme *Megninia*, mais le tarse de la quatrième paire de pattes du mâle atrophié. Les femelles ont souvent une plaque notogastrique.

Une seule et même espèce a été rencontrée chez divers fringillidés. *Chloris chloris*, *Fringilla spodiogenus*, *Carduelis carduelis*, *Carduelis cannabina*, *Serinus canaria*. Il est difficile d'affirmer s'il s'agit de *M. oscinum* Trouessart, ou de *M. similis* Bonnet. A s'en tenir à la description de Bonnet (1924), la forme des lobes abdominaux du mâle est celle de *M. similis*. La taille, cependant, est plutôt celle de *M. oscinum*. Ces deux espèces semblent d'ailleurs extrêmement voisines.

Genre **Protalges**. — Les deux paires de pattes postérieures sont toutes deux également hypertrophiées.

De ce genre, considéré comme la forme la plus ancienne de la sous-famille, nous avons identifié deux espèces :

P. accipitrinus Trouessart, chez *Falco naumani*.

P. attenuatus Trouessart, chez *Tyto alba*.

Ces hôtes sont normaux pour ces deux espèces.

C. Proctophyllodinæ. Dans cette sous-famille, à peu près inféodée aux petits passereaux, l'abdomen est bilobé dans les deux sexes et porte généralement des ornements chitineux divers (poils gladiformes, feuilles transparentes, etc...).

Douze espèces ont été identifiées.

Genre *Alloptes*. — La IV^e paire de pattes est hypertrophiée chez le mâle.

A. (Joubertia) microphyllus Robin et Mégnin a été trouvé régulièrement chez *Fringilla spodiogenys africana* et aussi chez *Saxicola torquata*. Le pinson est l'hôte habituel de cet acarien.

Genre *Proctophyllodes*. — Bonnet et Timon-David, examinant les sarcoptidés des oiseaux de Provence, rapportent à *P. ampelidis* Buchholz les *Proctophyllodes* trouvés chez nombre d'espèces de passereaux notamment : *Anthus trivialis* et *Sylvia atricapilla* (3 c).

Entraînés par leur autorité, nous avons été tentés de rapporter à *P. ampelidis* la majeure part de nos récoltes. L'aspect général des *Proctophyllodes* recueillis ne démentait pas cette façon de voir. Pourtant, un examen attentif des organes génitaux annexes mâles nous a fait retrouver des différences constantes que schématise la figure 2.

A la lumière de ces constatations, nous pensons devoir rapporter à *P. ampelidis* les acariens rencontrés habituellement chez :

Carduelis carduelis, *Carduelis cannabina*, *Chloris chlores*, *Fringilla spodiogenys*, *Passer domesticus*, *Serinus canaria*, et, accidentellement, chez :

Sylvia atricapilla, *Columba livia*, *Alectoris barbara*.

Par contre, quatre espèces voisines, mais différentes de *P. ampelidis* et différentes entre elles, parasitent : *Motacilla alba*, *Emberiza calandra*, *Sylvia atricapilla*, *Anthus trivialis*.

Ici encore, en attendant une révision des espèces européennes du genre *Proctophyllodes*, nous nous bornerons à figurer les caractères de ces espèces sans nommer d'espèces nouvelles. Ce serait compliquer encore l'établissement délicat de la synonymie du groupe « *P. ampelidis*, *P. profusus*, *P. truncatus* » :

En dehors de ce groupe nous avons récolté :

P. arcuaticaulis Trouessart, sur *Erythacus rubecula* et sur *Saxicola torquata*.

P. stylifer Buchholz, sur *Parus cæruleus ultramarinus*.

Genre *Pterodectes*. — Arc génital chitineux de la femelle raccordé aux épimères des pattes postérieures.

Deux espèces identifiées :

Pt. bilobatus Robin et Mégnin, chez *Galerida cristata* et *Galerida teklæ*.

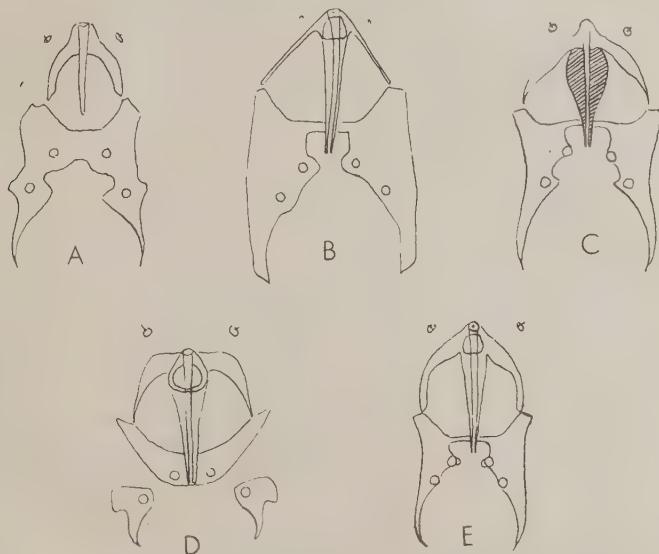


FIG. 2. — Organe génital et apodèmes chez les *Proctophyllodes* de quelques passereaux. — A, *Motacilla alba*. — B, *Emberiza calandra*. — C, *Sylvia atricapilla*. — D, *Anthus trivialis*. — E, *Passer domesticus*.

Pt. rutilus Robin et Mégnin, chez *Turdus merula*.

Genre *Pterophagus*. — Lobes abdominaux de la femelle élargis latéralement et sans appendices.

Pt. strictus Robin et Mégnin, parasite habituel du pigeon domestique, a été récolté sur *Sylvia simplex* (voir plus haut, p. 41) en compagnie de *Megninia columbæ*.

Genre *Trouessartia*. Lobes abdominaux allongés et atténués dans les deux sexes, terminés chez le mâle par des appendices transparents en forme de nageoire de poisson ou de roue dentée.

T. corvina Koch a été trouvé chez *Sturnus vulgaris*.

T. minutipes Berlèse a été récolté sur *Hirundo rustica*.

Chez *Erythacus rubecula*, nous avons recueilli quelques femelles et d'assez nombreuses nymphes de *Trouessartia*. En l'absence de mâles il nous est impossible de préciser l'espèce en cause.

TABLEAU SELON LES HÔTES DES SARCOPTIDES PLUMICOLES
RENCONTRÉS AU MAROC

ACCIPITRIFORMES.

Falco naumani Fleisch.

Protalgès accipitrinus.

STRYGIFORMES.

Tyto alba Scopoli.

Kramerella lunulata.

Protalgès attenuatus.

PASSERIFORMES.

Corvus corax tingitanus Irby.

Pterolichus delibatus.

Sturnus vulgaris L.

Trouessartia corvina.

Passer domesticus tingitanus Loche.

Analges chelopus.

Proctophyllodes ampelidis.

Chloris chloris aurantiiventris (Cabanis).

Alloptes microphyllus (accidentel ?)

Mesalgès oscinum.

Proctophyllodes ampelidis.

Fringilla spodiogenys africana Lev.

Alloptes microphyllus.

Analges passerinus.

Pteronyssus striatus.

Carduelis carduelis africanus (Hartert).

Analges passerinus.

Carduelis canobina (L.).

Mesalgès oscinum.

Serinus canaria serinus (L.).

Proctophyllodes ampelidis.

Emberiza calandra.

Proctophyllodes sp. ?

Galerida cristata riggenbachi Hartert et

Pterodectes bilobatus.

Galerida teklie erlangeri Hartert.

Proctophyllodes sp. ?

Anthus trivialis L.

Analges passerinus.

Proctophyllodes sp. ?

Motacilla alba L.

Proctophyllodes sp. ?

Turdus merula mauritanica (Hartert).

Pterodectes rutilus.

Erythacus rubecula L.

Proctophyllodes arcuaticaulis.

Trouessartia sp. ?

Saxicola torquata desfontainesi Blanchet.

Analges passerinus.

Proctophyllodes arcuaticaulis.

TABLEAU SELON LES HÔTES DES SARCOPTIDES PLUMICOLES
RENCONTRÉS AU MAROC
(suite)

<i>Sylvia atricapilla</i> L.	{ <i>Analges chelopus</i> (variété ?), <i>Proctophyllodes ampelidis</i> , <i>Proctophyllodes</i> sp. ?
<i>Sylvia communis</i> Lathan.	{ <i>Megninia columbæ</i> , <i>Pterophagus strictus</i> } (accidentels).
<i>Phylloscopus</i> s.p. ?	{ <i>Analges chelopus</i> (variété ?), <i>Proctophyllodes arcuaticaulis</i> .
<i>Parus cæruleus ultramarinus</i> Bonaparte.	{ <i>Megninia</i> sp. ? voisine de <i>megacentros</i> , <i>Proctophyllodes stylifer</i> .
<i>Hirundo rustica</i> L.	{ <i>Pteronyssus infuscatus</i> , <i>Pteronyssus nuntiæveris</i> , <i>Trouessartia minutipes</i> .
MICROODIFORMES.	
<i>Apus pallidus brehmorum</i> Hartert.	{ <i>Megninia æstivalis</i> , <i>Pterolichus securiger</i> .
COLUMBIFORMES.	
<i>Columba palumbus excelsus</i> Bonaparte.	{ <i>Falculifer rostratus</i> , <i>Megninia columbæ</i> .
<i>Columba livia</i> Gmelin.	
<i>Streptopelia turtur arenicola</i> (Hartert).	
GALLIFORMES.	
<i>Alectoris barbara</i> (Bonnaterre).	{ <i>Megninia tetraonis</i> , <i>Proctophyllodes ampelidis</i> (accidentel), <i>Xoloptes claudicans</i> .
CHARADRIIFORMES.	
<i>Glareola pratincola</i> .	{ <i>Pterolichus xyphiurus</i> , <i>Pterolichus charadrii</i> , <i>Syringobia tricalcarata</i> , <i>Megninia centropoda</i> , <i>Pterolichus vanelli</i> , <i>Proctophyllodes</i> sp. ?
<i>Charadrius dubius curonicus</i> Gmelin.	
<i>Vanellus vanellus</i> (Linne).	
<i>Scolopax rusticola</i> .	
ARDEIFORMES.	
<i>Ciconia ciconia</i> L.	<i>Freyana pelargica</i> .
ANATIFORMES.	
<i>Anas crecca</i> L.	<i>Freyana anatina</i> .

BIBLIOGRAPHIE

- ANDRÉ (M.). — Sur les Sarcoptides plumicoles des *Ratitæ*. *Bull. du Muséum*, 2^e s., X, 1938, p. 590.
- BONNET (A.). — Révision des genres *Megninia*, *Mesalges* et genres voisins de la sous-famille des Sarcoptidés plumicoles. *Bull. Soc. Zool. de France*, XLIX, 1924, p. 190.
- BONNET (A.) et TIMON-DAVID (J.). — Contribution à l'étude des acariens plumicoles. a) 1^{re} note, *Bull. Soc. Linnéenne de Provence*, V, 1932 ; b) 2^e note, *Ann. Parasit. hum. et comp.*, XI, 1933, p. 442 ; c) 3^e note, *Ibid.*, XII, 1934, p. 257.
- MÉGNIN (P.). — Sur les métamorphoses des acariens de la famille des Sarcoptidés et de celle des Gamasidés. *C.R. Acad. Sc.*, LXXVIII, 1874.
- TROUËSSART. — Diagnoses d'espèces nouvelles de sarcoptidés plumicoles. *Bull. Soc. Et. Sc. Angers*, XVI, 1886, p. 92.
- Révision des genres de la sous-famille des *Analgesinæ* ou Sarcoptidés plumicoles. *Bull. Soc. Zool. de France*, XL, 1915, p. 207.

Institut d'hygiène de Rabat (Maroc)

ANTAGONISME DES CULTURES DE *STAPHYLOCOCCUS* *AUREUS* ET DE *TRICHOPHYTON (ACHORION) SCHOENLEINI*

Par R. VANBREUSEGHEM (Anvers)

Dans un travail qui remonte à près de vingt ans, Catanei (1929) a étudié l'influence des cultures de staphylocoques, soit vivantes, soit tuées, soit filtrées, sur le développement du *Trichophyton schœnleini*. Les milieux de culture servant à cette étude furent le milieu d'épreuve de Sabouraud, la gélose servant à préparer le milieu NNN, la gélose ordinaire. D'une façon générale, il semble qu'on puisse tirer du travail de Catanei la conclusion que le staphylocoque favorise le développement de *T. schœnleini*. Il écrit, en effet, page 187 : « ...Le développement du champignon est d'autant plus grand que celui du microbe est limité, soit que la souillure ait été plus discrète, soit que, dans un même tube, on considère pendant les premières semaines les colonies où la bactérie a pris moins d'extension. »

Baudet (1923), d'autre part, a obtenu des cultures plus abondantes et plus duveteuses de *Trichophyton faviformes* sur un milieu gélosé à base de culture de staphylocoques en bouillon ordinaire, qui avait été stérilisé par la chaleur.

Il nous est apparu, à la lecture du travail de ces deux auteurs, qu'il était difficile de tirer des conclusions nettes, à cause de la variabilité des méthodes expérimentales employées et de la variation de constitution des milieux de culture.

Si l'on se rapporte au récent travail de G.-I.-M. Carlier (1948), dans lequel l'auteur étudie l'influence de sept peptones différentes sur le développement des dermatophytes, on est amené à constater que certaines peptones favorisent le développement bactérien aux dépens des champignons ; que d'autres permettent un développement trop aisé des moisissures ; que les unes sont favorables aux *Microsporon*, les autres aux *Trichophyton*.

Cette importance d'un milieu toujours égal à lui-même est d'ailleurs bien connue depuis les travaux de Sabouraud et les essais de

G.-I.-M. Carlier ne viennent qu'éclairer et préciser un point bien établi depuis longtemps.

Il nous a semblé intéressant de revoir cette influence des staphylocoques sur *T. schænleini* en n'employant qu'un seul milieu de culture ; jusqu'à plus ample informé, il ne faut donc, à notre avis, tirer des conclusions de notre travail que pour autant qu'elles se rapportent aux conditions dans lesquelles nous nous sommes placé.

Disons tout de suite que nous n'avons pu confirmer cette influence favorisante de staphylocoque sur les cultures de *T. schænleini* ; au contraire, les staphylocoques vivants ont toujours manifesté une action inhibitrice très nette sur leur développement.

Milieu de culture. — C'est en principe le milieu d'épreuve glycosé de Sabouraud. Mais, faute de pouvoir nous procurer la peptone granulée de Chassaing et le glycose massé de Chanut, nous nous sommes vu forcé de les remplacer par de la peptone bactériologique et du glycose chimique pur.

Nous insistons encore sur le fait que nous ne voulons pas attribuer aux conclusions de nos expériences une valeur supérieure à celle des conditions exactes dans lesquelles nous nous sommes placé.

Notre milieu de culture — que nous appellerons milieu de conservation — se compose donc comme suit :

Eau de ville	1.000 cm ³
Gélose	1 gr. 8
Peptone	3 gr.
Glycose	2 gr.

Ce milieu est stérilisé par chauffage progressif à l'autoclave jusqu'à 120° C. et maintenu à cette température durant vingt minutes.

Souches de Trichophyton schænleini. Grâce à l'obligeance du Dr Rivalier, directeur du Laboratoire municipal de la Ville de Paris, nous avons pu isoler ces souches que nous nommons RV 8, RV 15 et RV 20, à partir de cas de favus du cuir chevelu en mai 1947. Ces souches, entretenues sur milieu d'épreuve ou milieu de conservation, ont servi à nos expériences d'août à décembre de la même année. Elles étaient donc relativement jeunes.

Souches de Staphylococcus aureus. Deux souches de staphylocoques, St. 1 et St. 2, furent isolées chez un petit garçon et sa sœur atteints de furonculose en août 1947. On remarquera que, quoique cette infection procéda vraisemblablement de la même source, ou que l'un des deux enfants ait infecté l'autre, les staphylocoques isolés des lésions n'ont pas exactement le même pouvoir inhibiteur.

St. 3 fut isolé d'une hydro-adénite (août 1947). Enfin, St. 5 fut isolé d'un cuir chevelu favique en juin 1947. Ces différentes souches furent entretenues sur gélose bactériologique ordinaire, sauf St. 5 qui fut longtemps associé à une souche de *T. schœnleini* sur milieu de conservation.

Voyons d'abord quelle est l'action des staphylocoques vivants sur les cultures de *T. schœnleini*.

Expérience n° 1. — Trois souches de *Trichophyton schœnleini* (RV 8, RV 15 et RV 20) sont cultivées, soit seules, soit avec trois souches de staphylocoques (St. 1, St. 2, St. 3) sur milieu de conservation de Sabouraud à 25°. Le staphylocoque et le champignon sont ensemencés sur la gélose au même endroit. Pour se faire une idée assez exacte de l'importance du développement des colonies, on mesure de temps en temps leur diamètre maximum.

Diamètre du T. schœnleini après :

	10 JOURS	40 JOURS	80 JOURS
RV 15 seul	13 × 13 mm.	13 × 13 mm.	14 × 13 mm.
» + St. 1	6 × 6 mm.	9 × 8 mm.	11 × 8 mm.
» + St. 2	6 × 4 mm.	12 × 10 mm.	12 × 11 mm.
» + St. 3	7 × 5 mm.	9 × 9 mm.	9 × 8 mm.
RV 8 seul	9 × 7 mm.	11 × 10 mm.	12 × 11 mm.
» + St. 1	7 × 5 mm.	9 × 8 mm.	9 × 8 mm.
» + St. 2	5 × 3 mm.	5 × 3 mm.	6 × 4 mm.
» + St. 3	8 × 5 mm.	10 × 7 mm.	10 × 7 mm.
RV 20 seul	10 × 10 mm.	13 × 12 mm.	16 × 12 mm.
» + St. 1	8 × 6 mm.	10 × 7 mm.	
» + St. 2	8 × 4 mm.	11 × 11 mm.	
» + St. 3	8 × 5 mm.	9 × 9 mm.	

On peut conclure de cette expérience que les cultures de *T. schœnleini* pures se développent davantage que celles contaminées par le staphylocoque. Il est, d'autre part, évident que l'action inhibitrice des staphylocoques est variable, St. 2 exerçant par exemple une action inhibitrice plus forte que les autres souches, au début de la culture tout au moins.

D'autre part, l'action inhibitrice est variable suivant le *Trichophyton* auquel le staphylocoque est associé.

Le phénomène de l'inhibition, tel qu'on l'observe, paraît donc net mais très complexe dans ses modalités.

On peut se demander, d'autre part, si les émulsions de staphylocoques tués par la chaleur exercent une influence similaire : l'expérience suivante répondra à cette question.

Expérience n° 2. — La souche de staphylocoque St. 2 est cultivée 48 heures, sur gélose ordinaire à 37°. Après ce laps de temps, on émulsionne la culture dans de l'eau physiologique à raison de 5 cm³ d'eau physiologique par tube de culture. L'opacité de l'émulsion est égale à 5 à l'échelle de Mac Farland.

Une partie de l'émulsion est chauffée durant une heure au bain-marie à 60°. A du milieu de conservation de Sabouraud, liquéfié au bain-marie et refroidi à 50°, on ajoute par tube (tube de 18 mm. de diamètre renfermant environ 10 cm³ de milieu) : 1° soit 1 cm³ d'émulsion non chauffée ; 2° soit 1 cm³ d'émulsion chauffée ; 3° soit 1 cm³ d'eau physiologique. Les mélanges sont soigneusement agités, puis inclinés. Après refroidissement, on ensemence avec trois souches de *Trichophyton schœnleini* (RV 8, RV 15, RV 20). Les cultures sont maintenues à 25°.

	Diamètre des cultures de <i>T. schœnleini</i> après :			
	4 jours	8 jours	30 jours	72 jours
a) RV 8 sur mélange conservation émulsion 60°	4 × 9 mm.	9 × 9 mm.	15 × 13 mm.	14 × 13 mm.
b) RV 8 sur mélange conservation émulsion non chauffée	2 × 1 mm.	4 × 2 mm.	5 × 2,5 mm.	5 × 2,5 mm.
c) RV 8 sur mélange conservation eau physiologique ...	3 × 3 mm.	9 × 9 mm.	15 × 14 mm.	18 × 16 mm.
a') RV 15	5 × 5 mm.	14 × 15 mm.	20 × 17 mm.	21 × 16 mm.
b') RV 15	4 × 1,5 mm.	3 × 5 mm.	6 × 4 mm.	6 × 4 mm.
c') RV 15	4 × 5 mm.	14 × 14 mm.	20 × 17 mm.	22 × 17 mm.
a'') RV 20	3 × 3 mm.	13 × 13 mm.	15 × 14 mm.	16 × 13 mm.
b'') RV 20	3 × 1 mm.	3 × 3 mm.	6 × 4 mm.	5 × 3 mm.
c'') RV 20	4 × 3 mm.	10 × 11 mm.	14 × 14 mm.	16 × 15 mm.

Conclusions. — 1° Le staphylocoque vivant, ajouté au milieu de conservation, inhibe très nettement le développement de *T. schœnleini*. 2° Le staphylocoque tué ajouté au même milieu n'influence pas le développement de ce dermatophyte.

Si les émulsions de staphylocoques tués sont sans influence sur l'évolution de *T. schœnleini*, on peut imaginer cependant que ces microbes développent dans leur milieu de culture des substances qui auraient une action sur les cultures de *T. schœnleini*.

Expérience n° 3. — Le staphylocoque St. 2 est cultivé en bouillon ordinaire, durant 48 heures, à 37°. Après ce laps de temps, il est chauffé à 60° durant une heure. A du milieu de conservation, réparti dans des tubes de 12 mm. de diamètre à raison de 5 cm³ par tube, liquéfié au bain-marie et ramené à 50°, on ajoute, soit 1 cm³ de la culture de

St. 2, chauffée à 60°, soit 1 cm³ de bouillon ordinaire. On mélange et on incline.

Ces milieux de culture sont ensemencés avec *Trichophyton schænleini* soit RV 8, soit RV 15, soit RV 20.

Conclusion. — Les cultures, maintenues à 25° durant deux mois, n'ont montré aucune différence appréciable dans leur développement, que le milieu de culture ait été additionné de bouillon ordinaire stérile ou du bouillon de culture de St. 2 stérilisé à 60°.

La présence du staphylocoque tué ou des produits de son métabolisme n'exerce donc, dans les conditions d'expérience où nous nous sommes placés, aucune influence sur le développement de *T. schænleini*.

Mais peut-être la présence des corps microbiens s'oppose-t-elle à l'action d'une substance hypothétique apparue au cours du développement dans le milieu microbien. L'expérience suivante répondra à cette question.

Expérience n° 4. — Comme dans l'expérience précédente, le staphylocoque St. 2 est cultivé en bouillon ordinaire, durant 48 heures, à 37°. Puis la culture ainsi obtenue est centrifugée à 2.500 tours durant une demi-heure pour éliminer la grosse masse des corps microbiens, 1 cm³ du liquide surnageant, après avoir été chauffé 1 heure à 60°, est ajouté à du milieu de conservation, comme dans l'expérience précédente ; une même quantité de bouillon ordinaire stérile ajoutée au même milieu constituera le témoin. Les tubes sont ensemencés avec *T. schænleini* RV 8, RV 15, RV 20.

Conclusion. — Les cultures, conservées durant 2 mois à 25°, ne montrent aucune différence appréciable dans leur développement. Les produits de métabolisme du staphylocoque n'exercent donc, dans les conditions où nous nous sommes placés, aucune influence sur le développement des cultures de *T. schænleini*.

On peut cependant encore imaginer qu'une substance active se trouve enfermée dans le corps du microbe et qu'en détruisant celui-ci, par un chauffage par exemple, on pourrait mettre en évidence, par son action, un corps dont l'existence nous aurait jusqu'à présent échappé. Catanei, en préparant son « extrait » microbien, a cru pouvoir répondre par l'affirmative à cette question. En effet, suivant cet auteur, l'addition de ce filtrat à de la gélose simple (NNN) ou à de la gélose non sucrée de Sabouraud, peptonée à 1 p. 100, favorise la croissance de l'*Achorion*. Les quantités ajoutées ont été 5, 20, 55 gouttes d'extrait. « ...La croissance a été proportionnelle à la quantité ajoutée. »

Expérience n° 5. — Cette expérience a pour but de déterminer l'action de l'extrait de staphylocoque sur le développement de *T. schænleini*. Suivant Catanei, en effet, cet extrait aurait une action favorable sur la culture de dermatophyte.

A cet effet, nous cultivons, durant 48 heures, sur gélose ordinaire, notre souche St. 2. La culture est émulsionnée dans 5 cm³ d'eau physiologique (par tube de gélose inclinée); cette émulsion est chauffée durant 15 minutes à 40° puis filtrée sur Seitz. Le filtrat est ajouté à du milieu de conservation liquéfié et refroidi, à raison de 1 cm³ de filtrat pour environ 10 cm³ de milieu. Comme témoin, on ajoute au milieu de conservation de l'eau physiologique. Après un demi-mois d'observation, le *T. schænleini* RV 8, ensemencé sur chacun des milieux, a fourni des colonies de même importance : 14 × 13 mm. Quinze jours après le début de la mise en culture, les colonies avaient les dimensions de 6 × 5 mm. (extrait) et de 6 × 6 mm. (eau physiologique).

Nous vérifierons une autre expérience de Catanei, qui a vu des filtrats de cultures staphylococques non chauffées agir favorablement sur le développement de *T. schænleini*.

Expérience n° 6. — Egalement suivant Catanei, un filtrat de bouillon de culture de staphylocoque aurait une action favorisante sur le développement. Une culture de staphylocoque St. 2, en bouillon ordinaire durant 4 jours à 37° est filtrée sur Seitz. Le filtrat est ajouté à la dose de 1 cm³ à environ 5 cm³ du milieu de conservation; comme témoin, on emploie évidemment du bouillon ordinaire. Nous n'observons aucune différence dans le développement de *T. schænleini* RV 8 ensemencé sur ces deux milieux.

Des expériences précédentes, il semble donc bien qu'on puisse conclure que le staphylocoque vivant exerce une action inhibitrice sur le développement de *T. schænleini*; que la force de cette action est variable suivant les souches de staphylocoques; que le staphylocoque ne produit dans le milieu où il est cultivé aucune substance qui inhibe ou favorise le développement de *T. schænleini*; qu'enfin, le chauffage d'une émulsion de St. à 80° durant 15 minutes — appelons, si l'on veut, le résultat de ce chauffage « extrait » — ne présente pas davantage d'action similaire.

A côté d'assez nombreux faits négatifs, il reste un fait positif bien net: le staphylocoque vivant inhibe le développement de *T. schænleini*. Comment s'exerce cette action? Nous nous sommes demandé si le staphylocoque, se développant plus rapidement, même à 25°, que *T. schænleini*, ne crée pas à la surface du milieu de culture une sorte de film protecteur, qui empêche *T. schænleini* d'utiliser au maximum la surface de la gélose.

Expérience n° 6. — Cinq tubes de 18 mm. de diamètre renfermant du milieu de conservation incliné sont ensemencés de la façon suivante :
Tube n° 1 : avec *T. schænleini* RV 15.

— n° 2 : d'abord avec le staphylocoque St. 2, largement étalé à la surface de la gélose, puis par *T. schænleini* RV 15 au centre de ce premier ensemencement.

— n° 3 : comme le tube n° 2 mais le staphylocoque St. 2 est remplacé par St. 3.

— n° 4 : *T. schænleini* est ensemencé le premier, puis une anse de nichrome, chargée d'un fragment de culture de St. 2 est mise en contact avec le fragment de *T. schænleini* sans toucher la surface de la gélose.

— n° 5 : comme le tube n° 4, mais le staphylocoque St. 3 remplace St. 2.

Et voici quelles furent nos observations.

Diamètre des colonies de T. schænleini RV 18 après :

	10 JOURS	18 JOURS	50 JOURS
Tube n° 1	5 × 3,5 mm.	10 × 10 mm.	12 × 12 mm.
— n° 2	3 × 2,5 mm.	8 × 5 mm.	10 × 8 mm.
— n° 3	2 × 1,5 mm.	6 × 5 mm.	9 × 9 mm.
— n° 4	4 × 3 mm.	9 × 8 mm.	12 × 11 mm.
— n° 5	3 × 2,5 mm.	7 × 7 mm.	10 × 9 mm.

On pourrait conclure de l'expérience précédente que si le staphylocoque inhibe le développement de *T. schænleini*, ce n'est pas tellement parce qu'il le contamine, que parce qu'il prend possession le premier, à cause de son développement plus rapide, du milieu de culture mis à leur disposition.

N'agirait-il donc que comme un film, en empêchant le *T. schænleini* de s'étendre à l'aise ? Voici l'expérience que nous avons réalisée pour essayer de répondre à cette question :

Expérience n° 7. — Quatre tubes de milieu de conservation sont ensemencés sur toute leur surface avec la souche de staphylocoque St. 2 et placés à l'étuve à 37°, durant 48 heures. Après ce laps de temps, deux des cultures *in situ*, sont chauffées deux jours de suite au bain-marie à 60°. Les deux tubes non chauffés sont placés pendant ce temps-là en glacière. On vérifie, en prélevant une parcelle de chaque culture et en l'ensemencant en bouillon, que les tubes chauffés ont été stérilisés et que ceux placés en glacière renferment des cultures bien vivantes.

Chacun des tubes est alors ensemencé avec *T. schænleini* RV 8.

L'observation ultérieure de ces cultures a montré que seules les cultures vivantes exerçaient une inhibition sur le développement de *T. schænleini*.

RÉSUMÉ

Des différentes expériences rapportées ici, on peut tirer les conclusions suivantes :

1° le staphylocoque doré vivant exerce une influence inhibitrice sur le développement des cultures de *T. schænleini* ensemencées sur milieu de conservation ;

2° ce pouvoir inhibiteur varie suivant les souches de staphylocoques et les souches de *T. schænleini* ;

3° le pouvoir inhibiteur ne se retrouve ni dans les cultures stérilisées par la chaleur, ni dans les extraits, ni dans les filtrats.

BIBLIOGRAPHIE

- BAUDET (E.). — Recherches expérimentales sur les *Trichophyton* animaux à cultures faviformes. *Ann. parasit. hum. et comparée*, X, 1932, p. 520.
- CARLIER (G. I. M.). — An all British Mycological Culture Medium. *Brit. J. of Dermat. and Syphil.*, V, 60, Feb. 1948, pp. 61-63.
- CATANEI (A.). — Cultures d'*Achorion schænleini* et de *Trichophyton* sur milieux artificiels en présence de microbes et de produits microbiens et sanguins. *Arch. Inst. Past. d'Algérie*, VII, 1929, p. 184.

Institut de Médecine tropicale Prince-Léopold, à Anvers
(Directeur : prof. A. Dubois)

LA CAPSULE DES LEVURES. MORPHOLOGIE ET CONNAISSANCES BIOCHIMIQUES ACTUELLES

Par M^{me} H. LENORMAND

I. — HISTORIQUE

La morphologie de la capsule des levures n'a été que peu étudiée jusqu'à présent :

POTRON (1903), dans sa thèse de Doctorat en Médecine, expose les recherches faites antérieurement sur cette question par WILL (1895), CASAGRANDE (1897) et VUILLEMIN (1900). Personnellement, il étudie la morphologie capsulaire des *Torulopsis* et de quelques *Saccharomyces*, soit dans les tissus de l'hôte infecté, soit en culture. Sa description est déjà très détaillée. Mais, désormais, les auteurs vont se désintéresser de la question, qui va rester en suspens pendant plus de trente ans.

On ne peut, en effet, rapporter à l'étude de la capsule des levures les travaux de LAFAR qui, en 1906, décrit « le réseau gélatineux des levures », en étudie les propriétés chimiques et conclut à la nature glycidique de cette substance. Le mucilage paraît être en effet plutôt un produit de sécrétion des levures que l'homologue d'une capsule.

Mais, si l'étude de la capsule des levures est désormais négligée, celle des capsules bactériennes reste à l'ordre du jour chez les bactériologistes. Ceux-ci vont s'attacher surtout à mettre au point des méthodes de coloration applicables dans le domaine de la mycologie et qu'il est intéressant de citer.

LEGROUX et MAGROU (1920) découvrent une méthode de coloration des capsules bactériennes dans les tissus. Cette méthode, un peu modifiée, permettra à LEGROUX, en 1925, de rechercher les rapports de la capsule avec la virulence des germes. Pour cet auteur, la capsule serait un gonflement de l'ectoplasme bactérien (l'ectoplasme étant l'homologue de la membrane) et jouerait un rôle dans les phénomènes de virulence.

GUTSTEIN (1924) publie plusieurs mémoires sur une méthode

générale pour la mise en évidence de l'ectoplasme des bactéries Gram positives. Dans son troisième mémoire, il étend d'ailleurs cette méthode aux levures. Mais ses procédés de coloration ne s'avèrent pas toujours fidèles et de nombreux autres auteurs vont s'attacher à en trouver de meilleurs. Nous citerons seulement parmi eux :

BORIN (1925) qui emploie l'encre de Chine avec une émulsion de la culture dans du sérum animal frais.

CHURCHMAN et EMEJIANOFF (1933) qui utilisent le colorant de Wright et une solution de Clark et Lubbs tamponnée à pH 6,4.

HOWIE et KIRKPATRICK (1934) qui proposent une coloration combinée à l'éosine et à la fuchsine.

BUTT, BONYNGE et JOYCE (1936) qui se servent d'encre de Chine diluée dans du glycose à 6 pour 100.

Jean BRENOT (1939) qui, dans sa thèse de Doctorat vétérinaire, passe en revue les principales colorations employées en bactériologie pour mettre en évidence les capsules des germes, soit dans les tissus, soit en culture.

DOSCH (1942) qui colore avec une solution à 2,5 p. 100 de prontosil.

Nous n'avons cité que les principaux auteurs ayant donné des techniques de coloration qui nous ont paru intéressantes, mais beaucoup d'autres ont abordé le même sujet avec plus ou moins de succès.

Cette question des bactéries capsulées a posé de nombreux problèmes chimiques, biologiques, immunologiques, à l'étude desquels se sont attachés de nombreux auteurs. Tout récemment, R. DUBOS (1946), dans *The Bacterial Cell*, en a fait une étude complète.

Les mêmes problèmes se posaient pour les levures, mais l'absence à peu près complète de pouvoir pathogène chez la plupart d'entre elles devait longtemps gêner les recherches immunologiques.

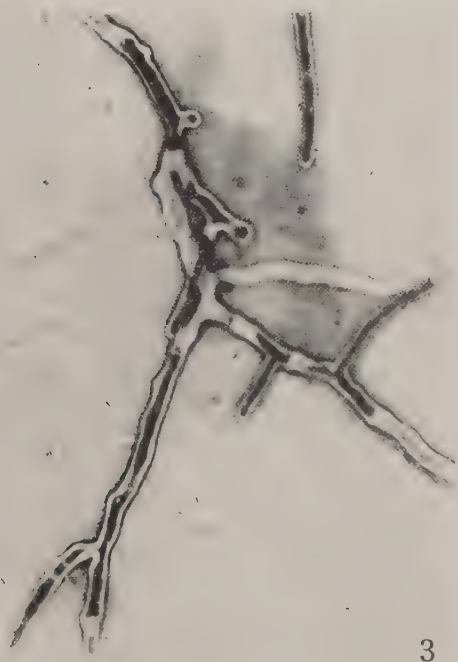
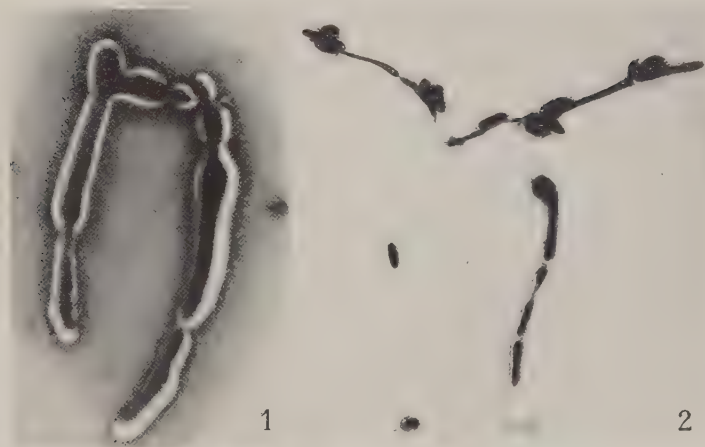
La seule levure vraiment très pathogène pour l'homme est *Torulopsis neoformans*. Celle-ci donne en effet une méningo-encéphalite toujours mortelle et dont le diagnostic peut se faire par l'étude du liquide céphalo-rachidien. A l'autopsie, on retrouve le champignon

PLANCHE III

FIG. 1. — *Endomycopsis vernalis*. — Culture de 5 jours. Longs filaments avec capsule bien développée. Souche n° 130.

FIG. 2. — *Saccharomyces fragilis*. — Culture de 30 jours. Blastospores et filaments formant pseudomycelium. Cellules et filaments sont entourés de leur capsule, commune aux points de contact. Souche n° 1.049.

FIG. 3. — *Ashbya gossypii*. — Culture de 5 jours. Filaments à capsule très nette. Bourgeonnement intra-capsulaire.



dans différents viscères et notamment dans le cerveau. Cette levure est très intéressante par sa morphologie même qui la distingue des autres levures. Elle possède une capsule volumineuse et tout particulièrement développée chez l'hôte infecté. Aussi est-ce avec *Torulopsis neoformans* que l'étude de la capsule des levures va être reprise, par Flavio L. NIÑO (1934) qui, à propos d'un travail essentiellement clinique et anatomo-pathologique, fait une étude assez sommaire de la capsule.

Cependant, faisant exception, NEGRONI décrit en 1935 la morphologie de la capsule de *Mycotorula (Candida) albicans* et, non rebuté par le faible pouvoir pathogène de cette levure, étudie, en 1936, les propriétés allergiques et antigéniques de sa substance capsulaire.

Désormais, les travaux les plus récents vont concerner *Torulopsis neoformans* et, notamment en 1938, DE BUSSCHER, SCHERER et THOMAS donnent une description de la capsule qui rappelle de très près les travaux de POTRON, bien que ces auteurs ne semblent pas en avoir eu connaissance et ne le citent pas dans leur bibliographie.

Tout récemment, J. MAGER et M. ASCHNER (1947) ont étudié les conditions de production d'amidon extra-cellulaire par les levures encapsulées, en particulier par de nombreuses espèces de *Torulopsis* dont *Torulopsis rotundata* et *Torulopsis neoformans*.

Ainsi, la capsule des levures n'a été jusqu'ici l'objet que d'études peu nombreuses et fragmentaires. Cependant, les résultats obtenus encourageaient à des recherches plus poussées et plus étendues.

Pour étudier la morphologie de la capsule des levures, il fallait posséder une méthode sûre, permettant d'obtenir des résultats concordants et éliminant les effets des variations individuelles de manipulation ou des réactions différentes de la part des diverses souches.

C'est pourquoi, à la recherche du meilleur procédé, nous avons essayé différentes techniques, dont nous allons maintenant donner la description.

II. — MÉTHODES DE COLORATION DES CAPSULES

Les principales méthodes de coloration des capsules vont être rappelées brièvement. La plupart de ces méthodes ont été transposées, au cours de ce travail, des bactéries aux levures. Certaines d'entre elles n'ont pu être exécutées par suite de l'impossibilité d'obtenir les produits nécessaires.

Le but de toutes ces techniques est de colorer électivement la

capsule, avec un colorant dont la teinte contraste avec celle du colorant somatique. Il est en effet possible, par des procédés très simples, comme l'émulsion de la culture dans le lugol ou dans une goutte d'encre de Chine, de voir la capsule. Mais celle-ci se présente sous forme d'un halo incolore, entourant le corps bactérien ou la levure, et contrastant avec le fond plus coloré de la préparation. C'est pour confirmer la réalité de ces capsules vues en « négatif » que de nombreuses techniques de coloration capsulaire ont été proposées.

1. Méthode de HUNTON (1932)

Le protocole de cette méthode est reproduit d'après NEGRONI (1935).

Emulsionner et étaler sur lame la culture dans le mélange suivant :

Sol. de <i>nutrose</i> (caséinate de sodium) à 3 p. 100 (stérilisée à la vapeur fluente)	100 cm ³
Sol. d' <i>acide phénique</i> à 2 p. 100	5 cm ³

L'étalement, séché et non fixé, est coloré pendant trente secondes par le *colorant de Hunton*, dont voici la formule :

Acide phénique à 2 p. 100 (sol. aq.)	100 cm ³
Acide lactique pur	0 cm ³ 25 à 0 cm ³ 50
Acide acétique à 1 p. 100	1 cm ³
Solution alcoolique saturée de fuchsine basique...	1 cm ³
Fuchsine phéniquée vieillie	1 cm ³

Laver, sécher, examiner : les cellules de levure sont colorées en rouge, la capsule est colorée en rose. D'après NEGRONI, un espace clair sépare la capsule du corps cellulaire ; souvent, la capsule se gonfle et présente un aspect stratifié.

2. Méthode de KUFFERATH (1929)

C'est une méthode pour la coloration des ascospores, adaptée aux capsules. Elle a été modifiée par LANGERON et GUERRA (1938).

Emulsionner la culture dans de l'eau distillée, sur une lame parfaitement dégraissée, et étaler. Il est préférable de ne pas faire bouillir l'émulsion pendant l'étalement comme le préconise GUERRA. Lorsque l'étalement est sec, fixer par la chaleur, puis recouvrir la

lame avec la solution de fuchsine basique phéniquée de Ziehl. Chauffer jusqu'à l'ébullition. Laisser refroidir, puis laver rapidement à l'eau. Différencier en quelques secondes par l'alcool lactique à 2 p. 100. Laver et colorer pendant trente secondes avec une solution à 1 p. 100 de chlorhydrate de bleu de Nil. Laver et, avant que la lame ne soit sèche, étaler une goutte d'encre de Chine.

La capsule non déformée est en négatif sur le fond noir. Les cellules sont en bleu, les ascospores en rouge. Cette coloration donne de bons résultats en cultures sur lame.

3. Procédé de BORIN à l'encre de Chine (1925)

Sur des lames parfaitement dégraissées (bichromate de potassium et acide sulfurique), on étale en couche très mince un sérum quelconque et on dessèche à chaud. Après refroidissement, on mélange, avec une goutte d'encre de Chine, une goutte d'émulsion de culture, on étale et on inonde de xylol le frottis encore humide. On laisse égoutter et on fait tomber, d'une hauteur de un centimètre, une goutte d'huile de cèdre. On examine sans lamelle les seuls germes fixés à la lame par le sérum.

4. Procédé de BUTT, BONYNGE et JOYCE (1936)

C'est encore un procédé à l'encre de Chine.

Ces auteurs obtiendraient de meilleurs résultats en diluant l'encre de Chine avec du glycose à 6 p. 100, au lieu d'eau distillée, et avec de l'azoblu.

5. Méthode de DOSCH (1942)

DOSCH colore les capsules des bactéries en employant la solution rouge de *prontosil soluble* du commerce, ou *rubiazol*.

Le frottis, non fixé, est coloré pendant deux minutes avec une solution à 2,5 p. 100 de prontosil et, sans laver, on sèche au buvard.

Les microorganismes seraient colorés en rouge et entourés d'une étroite zone incolore incluse dans une large zone rouge. C'est cette dernière qui, pour l'auteur, représenterait la capsule.

6. Procédés de GUTSTEIN

Dans une série de cinq Mémoires, GUTSTEIN fait une étude complète des capsules et donne une méthode générale de coloration.

Dans son premier Mémoire, il étudie une « Méthode générale pour la mise en évidence de l'ectoplasme des bactéries Gram positives ». Il retranscrit deux méthodes de EISENBERG.

Dans une première méthode, il colore par le *violet de méthyle*, puis traite la préparation par une solution aqueuse concentrée d'acide pierique et différencie par le chloroforme.

Dans une deuxième méthode, il colore avec une solution d'*aurantia* dans l'alcool méthylique et fait ensuite agir le *violet de méthyle*.

Il obtient les résultats suivants : l'ectoplasme est violet, l'endoplasme reste en négatif.

Ensuite, GUTSTEIN expose le principe de sa méthode. L'ectoplasme de toutes les bactéries Gram positives se colore avec presque tous les colorants basiques en solution aqueuse. De plus, cette méthode permet de mettre en évidence, par une double coloration contrastée, le corps bactérien et la capsule. Enfin, l'ectoplasme chromophile doit être soumis à un mordantage énergique au tanin pour être coloré.

Pour GUTSTEIN, le mordantage a pour but de modifier la gaine bactérienne et d'empêcher la pénétration du colorant dans le corps cellulaire. Voici l'exemple qu'il donne à l'appui de sa théorie : si on arrose du papier-filtre en quatre ou six épaisseurs avec une solution à 1 p. 100 de vert malachite, toutes les couches sont colorées en vert foncé. Si on arrose la première couche avec une solution étendue de tanin, puis l'ensemble avec le vert malachite, le colorant ne pénètre pas plus loin que la deuxième ou troisième couche. Les couches superficielles sont alors vert-de-gris et non vert foncé.

Les meilleurs colorants basiques sont :

Bleu de méthylène.	Pyronine.
Azur II.	Rouge neutre.
Thionine.	Fuchsine basique.
Vert malachite.	Violet de gentiane.
Vert brillant.	Violet de méthyle N bleu (Agfa) (1).
Vert d'iode.	Bleu Victoria.
Safranine.	Bleu de toluidine.

Il étend sa méthode aux levures et note les résultats suivants :

1° Si on colore par la méthode au tanin, la membrane des levures est colorée, alors que le corps (endoplasme) est faiblement coloré.

(1) Qui est un mélange de tétra, penta et hexa méthylpararosanilines.

Mais si, après avoir coloré en premier lieu l'endoplasme avec un colorant basique foncé (bleu de méthylène), on mordance par le tanin, puis on colore avec un colorant basique clair (safranine), on obtient une belle double coloration : l'endoplasme est bleu, l'ectoplasme est rouge.

2° En utilisant un colorant basique clair (phosphine), puis en mordançant au tanin et enfin en colorant avec un colorant basique foncé (violet de méthyle), on obtient les résultats suivants : la bordure est violet foncé, le centre (endoplasme) est jaune clair avec reflet violet.

Voici la **méthode au tanin** décrite par GUTSTEIN :

Emulsionner dans une goutte d'eau distillée une très petite quantité d'une culture sur milieu solide, puis étaler avec l'anse de platine.

Fixer par la chaleur, ou par une solution aqueuse saturée de sulfate de magnésium ou d'ammonium.

Mordancer pendant deux minutes par du tanin à 5 p. 100, puis laver à fond à l'eau.

Colorer à froid, en trente secondes ou une minute, par un colorant basique en solution aqueuse à 1 p. 100.

Si on veut mettre en évidence l'endoplasme, il faut faire agir le colorant approprié avant le mordantage ; puis colorer avec un colorant basique de contraste à froid, afin de limiter la pénétration du colorant à l'ectoplasme.

GUTSTEIN donne pour les levures les exemples suivants :

a. *Tanin-safranine* : ectoplasme rose, ainsi que la paroi des ascospores.

b. *Vert brillant phéniqué-tanin-safranine* : faire agir le vert pendant trois minutes, mordancer et colorer en trente secondes par la safranine : les ascospores sont vert clair, l'endoplasme vert bleuâtre, la paroi des ascospores et l'ectoplasme rouges.

Pour colorer différemment les ascospores et l'endoplasme, il faut faire agir d'abord un colorant phéniqué à chaud, puis différencier par l'acide acétique jusqu'à décoloration complète, et faire agir ensuite un colorant basique de contraste à froid.

c. *Violet phéniqué-acide acétique-vert brillant-tanin-safranine* : faire agir le violet pendant une minute à chaud, différencier par l'acide acétique à 5 p. 100, colorer en trois minutes à froid par le vert brillant, mordancer et enfin colorer en trente secondes par la safranine : les ascospores sont violettes, l'endoplasme vert bleuâtre, capsule et ectoplasme rouges.

d. *Bleu phéniqué-phosphine-tanin-safranine* : les ascospores sont bleues, l'endoplasme jaune, capsule et ectoplasme rouges.

Dans ses troisième et quatrième *Mémoires*, GUTSTEIN pousse plus loin l'analyse de l'ectoplasme des levures et montre qu'il est formé de deux couches, une interne épaisse, bien délimitée, une externe délicate, sans limites précises et formant un anneau flou. Ces détails peuvent être mis en évidence par les méthodes suivantes :

e. *Tanin-vert de Guinée* : mordancer par le tanin à 30 p. 100, laver à fond et colorer deux minutes par le vert de Guinée à 1 p. 100. La partie interne de l'ectoplasme est vert foncé, le reste est vert clair.

f. *Phosphine phéniquée-vert de Guinée* : colorer cinq minutes par la phosphine phéniquée, laver, colorer trente secondes par le vert de Guinée. L'endoplasme est jaune, l'ectoplasme vert.

g. *Ferrocyanure-bleu Victoria-tanin-safranine* : cette méthode permet de colorer les deux couches de l'ectoplasme en deux couleurs contrastantes. Traiter pendant cinq minutes, par le ferrocyanure de potassium de 2 à 10 p. 100, le frottis fixé par la chaleur. Laver à fond, colorer trois minutes par le bleu Victoria à 1 p. 100, laver, mordancer, laver et colorer quinze secondes par la safranine.

7. Technique de CHURCHMAN et EMELIANOFF (1933)

Cette technique sera reprise dans un chapitre ultérieur ; c'est elle qui a servi de base à nos recherches.

8. Technique de HOWIE et KIRKPATRICK (1934)

Ces auteurs préparent la solution suivante :

Solution à 10 p. 100 d'éosine W.G. ou d'érythrosine	4 parties
Sérum chauffé à 56 degrés	1 partie
Thymol	1 cristal

Laisser reposer plusieurs jours, centrifuger, garder le liquide limpide. Prélever une anse de ce liquide, une anse de Ziehl dilué au cinquième. Colorer une demi-minute avec ce mélange l'émulsion bactérienne. Ajouter une anse d'éosine, attendre une minute, étaler, sécher.

Les bactéries sont colorées par la fuchsine, les capsules se détachent incolores sur le fond rouge d'éosine.

9. Techniques de POTRON (1903)

Cet auteur emploie deux méthodes très simples.

La première est empruntée à STRASSBURGER : émulsionner la cul-

ture dans le bleu de toluidine concentré, étaler, sécher et décolorer rapidement à l'alcool. La cuticule se colore en rouge, le corps de la levure en bleu.

La deuxième technique lui est personnelle : il dépose sur la lame une petite goutte d'une émulsion de la culture sur milieu solide. Il recouvre d'une lamelle et fait arriver par un des côtés une goutte de *bleu de toluidine* concentré.

Résultat : la coloration est d'autant plus intense que l'élément est plus âgé. La coloration diminue d'intensité en allant vers le centre de la lamelle. Seule la « cuticule » est colorée et permet de *décrire* certains détails que nous exposerons plus loin.

Certains auteurs se sont attachés à mettre en évidence la capsule des bactéries ou des levures au *sein même des tissus*.

10. Méthodes de LEGROUX et MAGROU

En 1920, R. LEGROUX et J. MAGROU font connaître l'état organisé des colonies bactériennes en étudiant des coupes de ces colonies fixées à l'alcool-formol et colorées par un mélange d'éosinates de bleu de méthylène et de bleu de toluidine.

Voici leur technique : imbiber de formol le coton du tube de culture pendant 24 heures, afin de tuer la colonie, puis la fixer dans un mélange à parties égales de formol et d'alcool à 80 degrés. Faire des coupes au 1/300, 1/500, 1/1.000. Après déparaffinage, laver à l'alcool méthylique, puis colorer par :

Eosinate de bleu de méthylène	7 g.
Eosinate de bleu de toluidine	1,5 g.
Bleu de toluidine	0,5 g.
Alcool méthylique à 99,5 degrés	490 cc.

Opérer dans une boîte de Laveran. Couvrir la lame avec 1 cm³ de colorant ; au bout d'une minute, ajouter 4 cm³ d'eau distillée neutralisée ; puis retourner la lame et laisser colorer, face en dessous, pendant dix à quinze minutes. Laver à l'eau ordinaire et différencier par le tanin orange R.A.L. au quart, dans l'eau distillée neutralisée. La gélose doit prendre une teinte bleue. Déshydrater à l'alcool à 95 degrés. Toluène. Huile de cèdre.

L'endoplasme est violet, l'ectoplasme bleu azur.

LEGROUX, en 1925, publie de nouveaux détails pour la mise en évidence de l'ectoplasme qu'il identifie à la capsule.

Voici sa technique : émulsionner une parcelle de culture jeune de seize heures à dix-huit heures dans une goutte constituée par :

Sérum de mammifères	1 partie
Eau ordinaire	2 parties

Étaler le mélange et, avant dessiccation, fixer par les vapeurs d'acide osmique (solution aqueuse à 0,5 p. 100) pendant vingt à trente secondes. Laisser sécher et verser quelques gouttes d'alcool. Colorer par le *bleu de méthylène* ou le *bleu de toluidine*, tous deux colorants métachromatiques, ou bien encore par les *éosinates de bleus de méthylène et de toluidine*.

Le résultat obtenu est le suivant : l'ectoplasme est bleu pâle, l'endoplasme est violet pour les germes vivants, rouge pour les germes morts.

11. Méthode de NISSL

Cette méthode a permis à certains auteurs (DE BUSSCHER, SCHERER et THOMAS) de bien mettre en évidence l'architecture si particulière de la capsule de *Torulopsis neoformans*. Les images décrites par ces auteurs sont identiques à celles déjà publiées par POTRON en 1903 et obtenues par une méthode de coloration différente.

La méthode originale de Nissl n'est plus employée actuellement. On a recours au *procédé de de Gothard* :

Fixer les préparations à l'alcool à 96 degrés et inclure au colloïdion ou à la paraffine. Colorer pendant 24 heures à froid dans le *bleu polychrome de Unna*. Laver rapidement à l'alcool à 80 degrés. Différencier par le mélange de de Gothard :

Alcool absolu	16 cc.
Xylol	5 cc.
Créosote de hêtre	5 cc.
Essence de cajéput	4 cc.

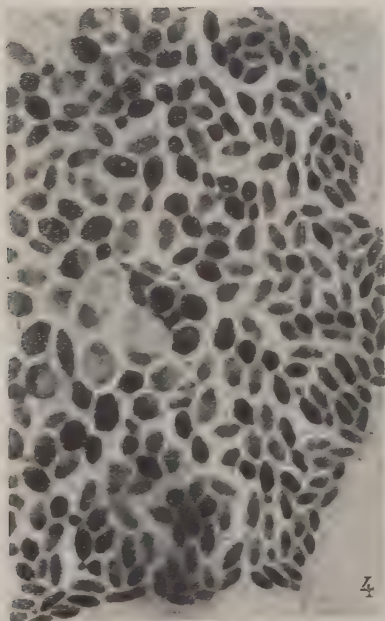
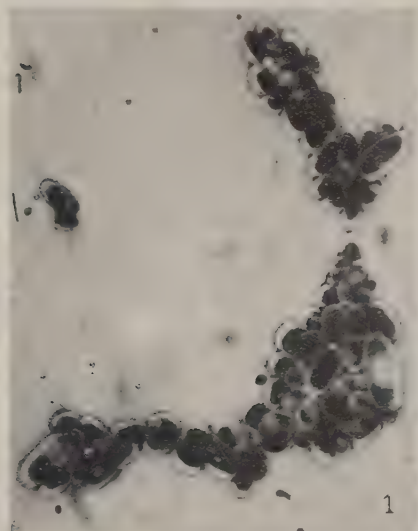
PLANCHE IV

FIG. 1. — *Candida krusei*. — Culture de 30 jours. Microphotographie d'une plage cellulaire bien encapsulée. Souche 1.046.

FIG. 2. — *Mycoderma vini*. — Culture de 3 jours. Cellules à ectoplasme linéaire ; capsules très développées, le soma cellulaire est souvent excentré. Souche n° 126.

FIG. 3. — *Debaryomyces klöckeri*. — Culture de 24 heures. Aspect général de la capsule. Les cellules les plus jeunes sont les plus fortement colorées.

FIG. 4. — *Saccharomyces miciparis*. — Culture de 24 heures. Plage cellulaire dont la bordure capsulaire est très nette. Aspect en mosaïque avec amas de colorant aux angles dièdres.



Laver à l'alcool absolu, puis au xylol et monter à l'huile de cèdre.

On obtient d'aussi bons résultats en employant comme colorant :

le bleu de méthylène à 1 p. 500,

le bleu de toluidine à 1 p. 100,

la thionine à 1 p. 100,

et comme différenciateur :

l'eau acétifiée à 1 p. 500.

DE BUSSCHER, SCHIERER et THOMAS ont employé comme colorant la thionine.

12. BRENOT, en 1938, dans sa Thèse de Doctorat vétérinaire, indique quelques méthodes de coloration des capsules bactériennes dans les tissus. Voici ces différentes méthodes :

Méthode de RIBBERT.

Colorer les lamelles ou les coupes pendant quelques minutes dans le mélange suivant saturé de *violet de dahlia* :

Eau distillée	100
Alcool	50
Acide acétique	2,5

La durée d'immersion doit être très courte, la coloration se faisant presque instantanément. Laver à l'eau, sécher et monter au baume.

Les germes sont en bleu foncé, les capsules en bleu clair.

Dans la *Méthode* de CONKEY, le colorant est plus complexe. Voici la formule de la solution conseillée :

Dahlia	0,5 g.
Vert de méthyle 00 cristallisé	1,5 g.
Solution alcoolique saturée de fuchsine	10 cc.
Eau distillée	200 cc.

FRIEDLANDER, pour la coloration des capsules du pneumocoque, indique la technique suivante :

Il colore les coupes pendant 24 heures dans un bain constitué par :

Solution concentrée de <i>violet de gentiane</i>	50 g.
Eau distillée	100 g.
Acide acétique	19 g.

Après lavage à l'eau, additionnée de 1 p. 100 d'acide acétique, il déshydrate par l'alcool et éclaircit les préparations à l'essence de cèdre. Monter au baume.

Les capsules restent souvent colorées, mais elles tranchent par leur teinte claire sur le corps cellulaire plus foncé.

Méthode de MALONE.

Cette méthode fait intervenir deux colorations contrastées :

La première est une coloration dans une solution à 1 p. 100 de *rouge Congo* pendant une minute. Laver, sécher à l'air et tracter par une solution d'acide chlorhydrique à 1 p. 100 dans l'alcool à 96 degrés.

Pour la deuxième coloration, plonger la préparation pendant une minute dans une solution de *violet de méthyle* à 5 p. 100. Laver et sécher.

Le fond est bleuâtre, les bactéries et leurs capsules sont violettes.

Méthode de VON RICINSDIJK.

Prendre un tube à hémolyse ; y laisser tomber cinq gouttes d'une solution de *protargol* à 1 p. 100. Dans ce liquide dissocier une parcelle de la culture à examiner. Ajouter ensuite cinq gouttes de la solution d'*éosine* alcalinisée avec du carbonate de sodium (une goutte de la solution à 20 p. 100 de carbonate de sodium pour un centimètre cube de la solution d'*éosine* à 2 p. 100). Laisser reposer dix à vingt minutes. Prélever alors une anse, l'étaler, sécher et examiner à l'immersion.

Le fond de la préparation est rouge, le corps bactérien rosé, et la capsule incolore est bordée à sa périphérie d'un cercle rouge très marqué.

Méthode de CARPANO.

Cette méthode a été décrite par CARPANO pour mettre en évidence certains germes pathogènes pour les animaux, tels que *Streptococcus equi*, *Bacterium equisepticum*, *B. suisepticum*, *B. mallei* et *B. typhi*. Pour les trois premiers, il fixe par les vapeurs d'*acide osmique* et colore par la *fuchsine* ou le *cristal violet* phéniqués. Le bacille morveux est fixé par la solution suivante, très voisine de celle de Zenker :

Bichlorure de mercure	4 g.
Bichromate de potassium	3 g.
Acide acétique glacial	2 g.
Eau distillée	100 g.

Il est ensuite coloré par la fuchsine phéniquée. Le bacille typhique, après dessiccation à l'air, est traité par les deux solutions suivantes :

Solution A	{ Acide tannique très pur	10 g.
	{ Solution mère de fuchsine basique..	10 cc.
	{ Eau distillée	100 cc.
Solution B	{ Solution à 1 p. 100 d'hydrate de	
	{ potassium très pur,	

Couvrir le frottis avec cinq ou six gouttes de la solution A ; laisser tomber au centre de la préparation deux ou trois gouttes de la solution B ; chauffer légèrement jusqu'à production de vapeurs et d'un léger voile irisé à la surface. Au bout de quatre à cinq minutes, laver, sécher et monter au baume.

Il est nécessaire que les lames soient très propres. Sur les préparations bien réussies les capsules sont, soit en négatif, soit en positif. On voit même les cils ou flagelles du bacille typhique, au nombre d'une douzaine, issus non du corps microbien mais de la capsule.

En résumé, ces diverses méthodes peuvent être réunies en deux groupes :

Dans un premier groupe, toutes les méthodes qui ne colorent pas la capsule proprement dite, mais qui la mettent en évidence d'une manière indirecte, par l'existence d'un fond coloré sur lequel se détache la capsule en « négatif ».

Dans un deuxième groupe, c'est la coloration de la capsule qui tient la première place. C'est là que nous avons retenu les méthodes les plus intéressantes, car ce sont elles seules qui ont mis en évidence la morphologie intime de la capsule.

III. — ETUDE CRITIQUE DES MÉTHODES DE COLORATION

Les nombreuses méthodes qui viennent d'être énumérées sont de valeur très inégale. Dans leur étude critique, nous nous arrêterons d'abord aux colorations des levures en culture, puis nous passerons en revue les colorations dans les tissus.

A. — En culture

1. — *Méthodes qui ne colorent pas la capsule mais la laissent apparaître en négatif sur le fond coloré*

Au premier chef, la plus ancienne, connue de tous les auteurs, est la *méthode à l'encre de Chine* ou *méthode de Burri*. On l'emploie couramment en bactériologie et en mycologie. Elle montre toujours autour de la cellule un halo incolore qui ne se laisse jamais pénétrer par l'encre de Chine. Cependant, A. FILIPE nie toute signification à ce halo, qui selon lui ne correspond pas à la capsule, mais serait le « résultat d'un phénomène physico-chimique », car on le retrouverait encore chez les bactéries non capsulées ; de même, ses dimensions seraient modifiées par les différentes températures de séchage et les différents liquides employés pour l'émulsion. Il y aurait donc une question de tension superficielle qui entrerait en jeu.

Cette méthode servant de base, certains auteurs se sont attachés à la perfectionner en la compliquant. Malgré l'extrême complexité de la méthode de BORIN (1925) que nous avons déjà décrite, les

résultats sont décevants, la capsule apparaît toujours en négatif et les images sont beaucoup moins belles et moins constantes qu'avec la méthode de Burri.

BUTT, BONYNGE et JOYCE (1936) se contentent de mélanger l'encre de Chine avec une solution de glycose à 6 p. 100. Les résultats sont nettement moins bons que par la méthode de Burri. Le mélange de l'azoblu avec l'encre de Chine nous a été impossible à réaliser : les matériaux que nous possédions précipitant lorsqu'on les mettait en contact.

L'emploi du *Lugol double* est très répandu en zymologie. Si l'examen a lieu entre lame et lamelle avec un objectif à sec, on obtient une belle aréole réfringente, véritable « zone de répulsion » pour les autres globules de levure. Pour la plupart des levures, la capsule se réduit à cet aspect et ne révèle aucunement son architecture interne. Cependant, chez *Torulopsis neoformans* (voir pl. VII, fig. 1, souche 632), la capsule est parfaitement nette avec un aspect réticulé. En effet, lorsqu'on laisse sécher la préparation et qu'on examine ensuite avec l'objectif à immersion, on obtient l'image suivante : le soma brun foncé est séparé par un espace libre d'une large aréole granuleuse jaune clair, contrastant nettement sur le fond. Ceci ne se voit que sur une culture jeune de 24 à 48 heures. Cette coloration est donc intéressante puisqu'elle est simple et rapide. C'est par elle que J. MAGER et M. ASCHNER ont mis en évidence l'existence de grains d'amidon intracapsulaires.

Cependant, à l'exception du cas de *Torulopsis neoformans*, ces méthodes sont imparfaites, la capsule apparaît comme une atmosphère enveloppant le corps cellulaire ; mais aucune architecture interne et même aucune limite externe n'ont pu être ainsi précisées.

2. — Méthodes recherchant une coloration élective de la capsule

Elles sont innombrables, et leur grand nombre est le témoignage de leur imperfection.

Les méthodes de GUTSTEIN, malgré les principes bien définis qui ont présidé à leur établissement, donnent de mauvais résultats. Le mordantage par le tanin a pour effet de sensibiliser la cellule au colorant qui se fixe intensément, et sans distinction, sur le corps bactérien et la capsule. On obtient de plus belles images capsulaires en faisant agir les deux colorants sans interposition du mordant. Les résultats sont bien supérieurs encore si, après fixation, on fait agir une solution à 5 p. 100 de tanin pendant cinq minutes.

On lave minutieusement et on fait agir les deux colorants (vert brillant, safranine, par exemple), en ayant soin de laver entre les deux colorations. On obtient la coloration suivante, assez bien contrastée lorsqu'elle est réussie : la capsule est colorée en vert, tandis que le corps cellulaire est rouge.

Nous avons modifié la technique de GUTSTEIN comme suit :

- a) Fixation par l'alcool.
- b) Coloration en trente secondes par le vert brillant.
- c) Lavage à l'eau, d'abord, puis à l'eau acétifiée à 1 p. 500.
- d) Faire alors agir une solution à 5 p. 100 de tanin pour mordancer.
- e) Laver et colorer quinze secondes par la safranine.

Par cette technique, nous avons obtenu de bons résultats : le corps de la levure est vert, la capsule est rouge vif. L'emploi du bleu Victoria, au lieu de vert brillant, nous a donné de bonnes images capsulaires. Dans ce cas, chaque cellule est entourée d'une large aréole réticulée rouge, séparée du soma cellulaire bleu par une zone circulaire claire. Dans certaines préparations, la capsule était traversée de part en part par des filaments issus de granulations rouges situées en bordure. Cependant, malgré les quelques bons résultats obtenus, la méthode de GUTSTEIN ne mérite pas d'être retenue, car elle est très infidèle, donnant de très belles images capsulaires chez certaines levures à capsule très développée, comme les *Torulopsis*, mais incapable de faire apparaître les capsules moins exubérantes des *Candida* et des *Debaryomyces*.

La méthode de J. W. HOWIE et J. KIRKPATRICK (1934) utilisant un mélange éosine-fuchsine et celle de DOSCH (1942) au Prontosil ne doivent être citées que pour mémoire, tant les résultats en sont inconstants. Dans les meilleures préparations, la limite externe de la capsule est seule indiquée. Avec le Prontosil, aucun contraste n'existe entre capsule et corps cellulaire. L'image obtenue est empâtée, la capsule étant un peu plus claire que le soma.

NEGRONI (1935) a obtenu de belles images chez *Candida albicans* avec la coloration de Hunton. Une photographie publiée dans son article montre des capsules parfaitement colorées et présentant des stratifications remarquables. Malheureusement, par manque de nutrose, nous n'avons pu reproduire exactement cette technique, et la coloration par le colorant de Hunton seul est peu satisfaisante.

De la longue liste de techniques reproduite par J. BREXOT, nous retiendrons deux faits :

- a) Les différentes méthodes qui s'adressent à la coloration des

capsules de levures au sein des tissus animaux donnent toujours de bons résultats, car la capsule est alors particulièrement développée et se laisse bien colorer.

b) Les méthodes destinées à la coloration des capsules de levures cultivées *in vitro* sont compliquées, difficiles à réaliser et font appel (méthode de Carpano) à des substances telles que acide acétique glacial, bichlorure de mercure, hydrate de potasse, dont l'action puissante et brutale peut perturber la véritable architecture cellulaire. Quant aux méthodes employant le violet de gentiane, elles n'ont absolument aucun cours en mycologie ; ce corps ne permet en aucun cas l'obtention de colorations fines et bien différenciées du protoplasme cellulaire et de ses annexes.

La méthode de POTRON (1903), au contraire, nous a paru intéressante. Elle est simple et ne fait appel à aucune manœuvre traumatisante pour les cellules. Nous l'avons décrite dans un chapitre précédent. Cependant, elle ne donne de très bons résultats que pour le genre *Torulopsis* et en particulier pour *T. neoformans*. C'est grâce à cette méthode au bleu de toluidine que POTRON a décrit l'aspect en bogue de châtaigne de la capsule de *Torulopsis neoformans*.

Nous rapprocherons de cette méthode, par analogie des résultats, celle de Nissl, modifiée par de Gothard. Les auteurs qui l'employèrent (DE BUSSCHER, SCHERER et THOMAS, 1938) colorèrent par la *thionine* à 1 p. 100. Il nous a été impossible d'obtenir de bonnes images avec ce colorant. Au contraire, un séjour prolongé, de trois à quatre jours, dans une solution déjà vieille de bleu de toluidine à 1 p. 100, nous a permis d'obtenir, avec *Torulopsis neoformans*, à peu près les mêmes figures que celles décrites par ces auteurs.

B. — Dans les tissus

Cette revue critique ne saurait être complète si nous n'abordions maintenant les techniques de coloration des capsules des levures au sein des tissus humains ou animaux.

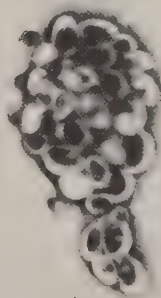
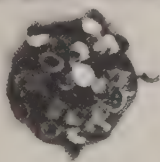
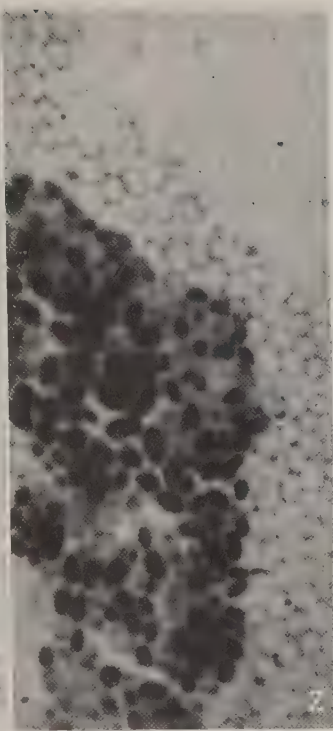
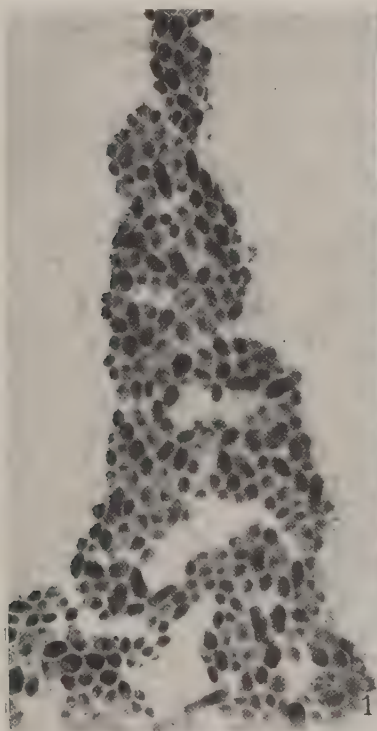
PLANCHE V

FIG. 1. — *Saccharomyces carlsbergensis*. — Culture de 8 jours. Plaque cellulaire dont la périphérie est entourée de capsules vides sous forme d'anneaux.

FIG. 2. — *Candida parakrusei*. — Culture de 8 jours. Capsules vides formant un réseau rigide. Souche 198.

FIG. 3. — *Rhodotorula*. — Souche 1.081 indéterminée. Culture de 8 jours. Même légende que pour la figure 4.

FIG. 4. — *Rhodotorula*. — Souche 1.081 indéterminée. Culture de 3 jours. Plages cellulaires des capsules vides et le corps cellulaire au contact de sa capsule.



Ici, les difficultés sont à peu près nulles et l'on peut dire que toutes les méthodes sont bonnes. En effet, les colorants histologiques sont plus électifs que ceux employés pour les colorations bactériologiques. Les fixations cytologiques sont aussi moins brutales. Et surtout, ces techniques ne s'exercent, en fait, que sur une seule espèce de levure, à savoir *Torulopsis neoformans*, la seule levure réellement pathogène pour l'homme et certains animaux de laboratoire. Cette levure a une capsule très développée en culture *in vitro*, mais celle-ci double ou triple son volume chez l'hôte infecté. Aussi est-il inutile de chercher une coloration spéciale, alors que les colorations les plus habituelles, telle l'hémalun-éosine, donnent de bons résultats.

Une très bonne formule est celle qui consiste à employer, après fixation par le liquide de Bouin, l'hémalun-érythrosine-safran. Avec cette coloration, la capsule de *Torulopsis neoformans* présente de très belles stratifications concentriques. Elle est très large, rouge vif, et séparée du corps cellulaire bleu violacé par une mince aréole incolore, paraissant vide. Le pourtour extérieur de la capsule est constitué par un liseré violet.

De l'étude de toutes ces techniques, il ressort :

1° qu'aucune d'elles n'est spécifique, permettant la coloration toujours élective de la capsule ;

2° que celles qui ont pu sembler satisfaisantes, ne le sont en fait que pour le genre *Torulopsis* et en particulier pour *T. neoformans*, à capsule bien développée.

Il fallait donc trouver une méthode spécifique, applicable à toutes les levures et donnant des résultats toujours semblables pour une espèce donnée. Une seule technique a répondu à ces exigences, c'est celle de CHURCHMAN et EMELIANOFF (1933), reprise et modifiée par BERNSTEIN en 1941 sans résultats efficients. Cette technique sera étudiée en détail dans le chapitre suivant.

IV. — MORPHOLOGIE DE LA CAPSULE DES LEVURES

A. Méthode adoptée. — Contrairement aux différentes méthodes que nous venons d'envisager et dont les résultats sont souvent incertains, une méthode simple, facile à réaliser, donne de façon constante les meilleurs résultats, c'est celle qui fut décrite en 1933 par CHURCHMAN et EMELIANOFF.

Ces auteurs avaient cherché le moyen de mettre en évidence les

capsules des bactéries dites « non capsulées ». Pour cela, ils employaient simultanément le colorant et le fixateur, alléguant que les fixateurs habituels (chaleur, alcool...) sont trop énergiques et modifient la morphologie bactérienne. Voici donc leur technique :

Tous leurs examens sont faits sur des cultures jeunes, de 18 heures au plus, sur milieu solide. Un fragment de la culture est émulsionné dans de l'eau distillée, étalé et séché rapidement à l'air. La préparation est alors recouverte de dix gouttes du colorant de Wright (1) filtré. On laisse au contact jusqu'à évaporation presque complète, c'est-à-dire durant trois minutes environ, le colorant étant alors de teinte pourpre. On lave ensuite avec une solution tampon de Clark et Lubbs (2) à pH 6,4 ou 6,5 et on sèche rapidement.

Les résultats sont les suivants : le corps bactérien est bleu, la capsule est rose pourpre pâle pour sa substance, rose pourpre vif à sa périphérie.

Les meilleurs résultats sont obtenus lorsqu'on lave à l'eau distillée après l'action de la solution tampon ou quand on laisse toute la nuit la préparation dans le colorant de Wright, en évaporant ensuite comme il a déjà été dit.

Au sujet de leur méthode, les auteurs notent, d'une part, qu'une coloration trop prolongée peut nuire à la mise en évidence des capsules, et, d'autre part, que souvent il y a un dépôt de colorant sur la membrane capsulaire, celle-ci étant ainsi mieux silhouettée.

Les auteurs indiquent ensuite les modifications que l'on peut apporter à leur méthode sans nuire aux résultats. Le colorant peut

(1) *Colorant de Wright*, d'après MALLORY (F. B.) et WRIGHT (J. H.), *Pathological Technique*, 8^e édition, 1924.

Solution aqueuse de bicarbonate de sodium à 0,5 p. 100 ; ajouter bleu de méthylène à 1 gr. pour 100 cm³ de la solution, chauffer à 100 degrés exactement pendant une heure ; dans les récipients la hauteur du liquide ne doit pas excéder 6 cm. Refroidir dans l'eau froide si besoin est et filtrer pour éliminer le précipité. La solution refroidie doit être de couleur rouge pourpre foncé en couche mince.

A 100 cm³ de la solution filtrée, ajouter 500 cm³ d'une solution aqueuse d'éosine à 0,1 p. 100 (yellowish water soluble). Recueillir le précipité abondant sur un filtre, puis dissoudre ce précipité sec à raison de 0,1 gr. pour 60 cm³ d'alcool méthylique. Mettre en flacons hermétiquement bouchés pour éviter l'évaporation de l'alcool.

(2) *Liquide tampon de Clark et Lubbs* pour un pH de 6,4 : 50 cm³ phosphate monopotassique N/5 ; 12,6 cm³ soude N/5 ; compléter à 200 cm³.

(3) Formule du liquide de Giemsa :

Azur II éosine	3 gr.
Azur II	0,8 gr.
Glycérine chimiquement pure ($d = 1,26$)	125 gr.
Alcool méthylique chimiquement pur	375 gr.

Filtrer après 48 heures de séjour à l'étuve à 37 degrés, pendant lesquelles on agite fréquemment.

être modifié, l'érythrosine remplacer l'éosine et l'alcool éthylique se substituer à l'alcool méthylique. De bons résultats peuvent être encore obtenus avec le tétrachrome de Mac Neal, le Giemsa, la méthode de Casarès-Gill.

D'autres modifications ont été proposées par BERNSTEIN (1941). Celui-ci, après avoir expérimenté sans résultat d'autres techniques, a adopté la méthode de CHURCHMAN et EMELIANOFF, mais a cru bon de la modifier afin de mieux différencier la capsule :

Il plonge deux minutes le frottis sec dans l'acide acétique à 5 p. 100, lave à l'eau et sèche avant de colorer selon la technique de Churchman et Emelianoff.

Nous-mêmes avons préféré revenir à la méthode originale ; nous avons toutefois substitué au colorant de Wright le colorant de Giemsa, dont la préparation est plus simple. Nous avons, bien entendu, vérifié l'identité des résultats donnés par ces deux colorants.

Voici la technique que nous avons adoptée :

La culture, sur gélose glycosée à 2 p. 100, peptonée à 1 p. 100, est émulsionnée dans une goutte d'eau distillée et étalée. Sécher rapidement, puis plonger la préparation dans un tube Borrel contenant le colorant de Giemsa pur. Laisser au contact quelques minutes. Egoutter la lame et laver rapidement avec la solution tampon de Clark et Lubbs à pH 6,4. Laisser sécher et examiner avec l'objectif à immersion.

Personnellement, cette méthode nous a donné les meilleurs résultats. L'ayant essayée sur de nombreuses souches et sur plusieurs milliers de préparations, nous avons obtenu toujours les mêmes images capsulaires ; images variant avec l'espèce envisagée, mais constantes pour une espèce donnée.

B. Matériel. — Grâce à l'obligeance du Centraal Bureau voor Schimmelcultures, annexe de Delft (Pays-Bas), un grand nombre de souches, de genres et d'espèces différents, ont été mis à notre disposition. L'exactitude des déterminations, nous mettant à l'abri de toute erreur diagnostique, donnait donc toute sécurité à nos recherches.

Nous avons expérimenté sur seize genres différents de levures dont voici la nomenclature exacte.

Nous les groupons en deux grandes classes :

- les levures ascosporées ;
- les levures anascosporées.

1. Levures ascosporées.

a. — Genre *Saccharomyces* :

Ce groupe est important du point de vue industriel ; ce sont les levures de fermentation par excellence, levures de panification, levures de vin, levures de bière, etc...

Huit espèces différentes, la plupart provenant de Delft :

<i>Saccharomyces unisporus</i> Jörgensen	N°	95
<i>Saccharomyces muciparis</i> (Beijerinck)	N°	96
<i>Saccharomyces uvarum</i> (Beijerinck)	N°	98
<i>Saccharomyces pastorianus</i> (Hansen)	N°	97
<i>Saccharomyces fragilis</i> Jörgensen, 2 souches :		
souche envoyée de Norvège ..	N°	998 bEp
souche française	N°	1049
<i>Saccharomyces carlsbergensis</i> Hansen	N°	1037
<i>Saccharomyces cerevisiæ</i> (Hansen) var. <i>annulatus</i>	N°	402

b. — Genre *Shizosaccharomyces* :

Une seule espèce :

<i>Shizosaccharomyces octosporus</i> Beijerinck	N°	99
--	----	----

c. — Genre *Debaryomyces* :

Trois espèces appartenant à la Mycothèque de l'Institut de Parasitologie de Paris :

<i>Debaryomyces klöckeri</i> Guilliermond et Peju ...	N°	603 K
<i>Debaryomyces hudeloi</i> (de Beurmann et Gougerot 1910)	N°	599
<i>Debaryomyces matruchoti</i> Grigoraki et Peju	N°	1056

d. — Genre *Pichia* :

<i>Pichia membranæfaciens</i> Hansen	N°	1038
--	----	------

e. — Genre *Endomycopsis* :

Trois espèces envoyées de Delft :

<i>Endomycopsis fibuliger</i> (Lindner) Dekker	N°	129
<i>Endomycopsis vernalis</i> (Ludwig) Dekker	N°	130
<i>Endomycopsis capsularis</i> (Schiønning) Dekker ..	N°	131

f. — Genre *Endomyces* :

<i>Endomyces magnusi</i> Ludwig	N°	125
---------------------------------------	----	-----

g. — Genre *Hanseniaspora* :

<i>Hanseniaspora guilliermondi</i> Pijper	N°	127
---	----	-----

h. — Genre *Hansenula* :

<i>Hansenula saturnus</i> (Klöcker) Sydow	N°	121
---	----	-----

i. — Genre *Nadsonia* :

<i>Nadsonia fulvescens</i> (Nadson et Konokotine)	
Sydow	N° 132

j. — Genre *Nematospora* :

<i>Nematospora coryli</i> (Peglion)	N° 128
---	--------

k. — Genre *Schwanniomyces* :

<i>Schwanniomyces occidentalis</i> Klöcker	N° 123
--	--------

2. Levures anascosporées.

a. — Genre *Torulopsis* :

Torulopsis neoformans (Sanfelice) Lodder (= *T. histolytica*).

C'est la seule levure à pouvoir pathogène élevé, et présentant une affinité particulière pour le système nerveux central.

Nous avons eu à notre disposition cinq souches de provenances différentes et numérotées comme suit :

N° 859

N° 858

N° 12

N° 812, souche donnée par le Prof. Debré à l'Institut de Parasitologie de Paris. Cette levure fut à l'origine d'une méningo-encéphalite mortelle, dont l'étude clinique et expérimentale a paru dans le *Bulletin de l'Académie de Médecine*, Paris, CXXX, 1946, 443-449 et dans *Annales pædiatrici*, CLXVIII, 1947, 1-33.

N° 1139, souche issue du liquide céphalo-rachidien d'un malade mort de méningo-encéphalite et due à l'obligeance du Prof. Mollaret.

<i>Torulopsis pulcherrima</i> (Lindner) Saccardo	N° 786
<i>Torulopsis laurentii</i> (Kufferath) Lodder	N° 103
<i>Torulopsis lipofera</i> (den Dooren de Jong) Lodder	N° 105
<i>Torulopsis utilis</i> (Henneberg) Lodder	N° 104
<i>Torulopsis molischiana</i> (Ziks) Lodder	N° 106
<i>Torulopsis flavescens</i> (Saïto) Lodder	N° 107
<i>Torulopsis albida</i> (Saïto) Lodder	N° 108

b. — Genre *Rhodotorula* :

A ce genre appartiennent les levures roses ou rouges contenant des pigments caroténoïdes :

<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> (Jørgensen)	N° 1080
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> , var. <i>carbonei</i> Lodder	N° 77
<i>Rhodotorula rubra</i> (Demme) Lodder	N° 79
<i>Rhodotorula aurantiaca</i> (Saïto) Lodder	N° 80

<i>Rhodotorula bronchialis</i> (Ciferri et Redaelli)	
Lodder	N° 81
<i>Rhodotorula longissima</i> Lodder	N° 83
<i>Rhodotorula gracilis</i> Rennerfelt	N° 84
<i>Rhodotorula pallida</i> Lodder	N° 94
<i>Rhodotorula glutinis</i> Harrison	N° 1066
<i>Rhodotorula glutinis</i> , var. <i>rubescens</i> (Saito) Lodder	N° 86

A ces dix espèces déterminées et dont la plupart sont originaires de Delft, nous ajoutons quatre souches de levures rouges, à pigments caroténoïdes, mais dont les caractères biologiques de diagnose n'entrent pas dans le cadre actuel des *Rhodotorula*. Ce sont les souches N° 610 ou souche St-Jean, N° 1040, N° 1081, N° 1069.

c. — Genre *Candida*

Ce groupe présente une importance certaine du point de vue médical. En effet, parmi ses représentants on relève des espèces pathogènes pour l'homme. La virulence de ces organismes est cependant peu marquée. Elle nécessite pour se manifester un terrain spécial; le plus souvent ces levures ne déterminent des troubles que chez les organismes débilités, les cachectiques ou les infectés chroniques et, au premier chef, les tuberculeux.

Parmi tout ce groupe, il est une levure universellement reconnue pour son pouvoir pathogène, c'est *Candida albicans* (souvent dénommée *Mycotorula albicans*, ou plus improprement encore *Oidium albicans*). Elle est l'agent du muguet et serait à l'origine de certaines blastomycoses pulmonaires. Il n'en est rien d'ailleurs, car de nombreux prélèvements, pratiqués chez des enfants atteints de muguet, nous ont permis de constater que d'autres levures du genre *Candida* devaient être incriminées.

Ce court aperçu permet néanmoins de comprendre l'importance de ce groupe en pathologie humaine.

Seize espèces ont été examinées. Ce sont :

<i>C. albicans</i> (Ch. Robin) Berkhout	N° 118
<i>C. stellatoidea</i> (Johns et Martin) Langeron et Guerra 1938	N° 111
<i>C. triadis</i> Langeron et Talice (1932)	N° 753
<i>Candida krusei</i> (Castellani) Berkhout, souche L'Harridon	N° 1046
<i>Candida tropicalis</i> (Castellani) Berkhout	N° 518
<i>Candida parakrusei</i> (Castellani) [= <i>C. parapsilosus</i> (Ashford) Langeron et Talice]	N° 198
<i>Candida intermedia</i> (Ciferri et Ashford 1929)....	N° 110
<i>Candida lipolytica</i> (Harrison) Diddens et Lodder	N° 112
<i>Candida zeylanoïdes</i> (Castellani) Langeron et Guerra	N° 113

<i>Candida reukaufii</i> (Grüss) Diddens et Lodder ..	N°	114
<i>Candida pelliculosa</i> (Redaelli)	N°	115
<i>Candida humicola</i> (Daszewska) Diddens et Lodder	N°	116
<i>Candida macedoniensis</i> (Castellani et Chalmers) Berkhout	N°	117
<i>Candida brumpti</i> Langeron et Guerra	N°	119
<i>Candida guilliermondi</i> (Castellani) Langeron et Guerra	N°	8 et 418

d. — Genre *Ashbya* :

<i>Ashbya gossypii</i> (Ashby et Novell) Guilhaumon	N°	124
---	----	-----

e. — Genre *Mycoderma* :

<i>Mycoderma vini</i> Desmazières	N°	126
---	----	-----

Telles sont les diverses souches qui ont été mises à notre disposition. Il était indispensable, pour les utiliser, d'observer certaines précautions permettant de rester toujours dans les mêmes conditions d'expérimentation.

Pour cela, toutes les souches ont étéensemencées sur gélose glycosée à 2 p. 100, peptonée à 1 p. 100, et maintenues à une température de 25 degrés. Les prélèvements étaient faits simultanément le même jour pour les cultures du même âge et à des âges différents de culture, mais toujours les mêmes pour toutes les souches.

Voici les temps de prélèvement choisis :

Cultures de 24 heures,	Cultures de 15 jours,
48 heures,	21 jours,
3 jours,	30 jours,
5 jours,	2 mois,
8 jours,	

C. Morphologie de la capsule. — Avant d'entreprendre la description détaillée de la capsule chez les levures, il est utile de préciser par une définition ce qu'on entend par ce terme. C'est encore CHURCHMAN et EMELIANOFF qui nous la fournissent :

« La capsule entoure de toutes parts le corps bactérien, elle n'est pas colorée par les méthodes habituelles, occasionnellement par le Gram et en règle seulement par des méthodes spéciales impliquant l'usage de mordants. »

Le terme de membrane employé par POTRON est le synonyme de capsule.

Parmi les auteurs qui ont le plus étudié la capsule des levures, nous retiendrons deux noms par ordre chronologique : M. POTRON

(1903) et P. NEGRONI (1935 et 1936). Tous deux expérimentèrent sur un petit nombre d'espèces, souvent de détermination incertaine.

Dans sa Thèse, POTRON fait état :

1° des recherches antérieures de WILL (1895), puis CASAGRANDE (1897) qui décrivaient à certains blastomycètes une membrane stratifiée, formée de couches concentriques et d'autant plus développée que la cellule est plus âgée ;

2° des travaux de VULLEMIN (1900) qui différencie la membrane de *Saccharomyces granulatus* en deux couches, une interne stratifiée et une externe ou cuticule. Cette dernière présente une ornementation particulière, formée de tubercules situés à sa surface. Mais cette disposition n'a pu être retrouvée par POTRON ni chez cet organisme, ni chez d'autres levures ;

3° enfin, l'auteur donne une description de la membrane de *Saccharomyces cerevisiae* d'après KUNSTLER et BUSQUET 1898. On verrait autour du corps de la levure trois couches différentes ; en allant de la périphérie vers le centre :

a, une zone hyaline, claire, peu réfringente et non « tingible » ;

b, l'enveloppe cuticulaire, résistante et réfringente, d'aspect hétérogène et présentant des alternances de couches claires et de couches sombres ;

c, une couche sous-cuticulaire, à une seule assise, comparable à un tégument.

Malheureusement, POTRON n'a pu retrouver une telle disposition.

Personnellement, POTRON reprend ces recherches et étudie en particulier *Torulopsis neoformans*. Sa technique très simple a été décrite dans un chapitre antérieur.

Les résultats obtenus sont les suivants :

Pour les levures jeunes, la cuticule est mince, non stratifiée.

Pour les levures âgées, la membrane est très épaisse (le quart et même le tiers de l'élément considéré). Elle est striée concentriquement, avec alternance de couches claires et de couches foncées. Les strates les plus externes et les plus âgées sont souvent rompues en certains points, formant des incisures en escalier. Mais il nie l'existence d'un « halo hyalin capsulaire » autour des cellules, quel que soit leur âge.

La coloration par le bleu de toluidine lui permet aussi de mettre en évidence l'ornementation de la cuticule. Chez *Saccharomyces tumefaciens* ou *neoformans*, cette cuticule présente des ornements en forme de tubercules disposés régulièrement en lignes parallèles. Ceux-ci forment la base « d'une sorte d'aiguillon acéré,

rigide et rectiligne », atteignant exactement en hauteur la dimension de la « zone de répulsion » correspondant à la zone externe hyaline, non tingible. Il compare cette disposition des ornements à celle d'une bogue de châtaigne. Et il conclut :

« La capsule n'est qu'une dépendance de la cuticule au point de vue de la morphologie comme au point de vue de la genèse. Elle ne ressemble en rien aux mucilages observés sur les tissus végétaux supérieurs. »

Ce même aspect en bogue de châtaigne a été retrouvé par DE BUSSCHER, SCHERER et THOMAS chez *Torulopsis neoformans* coloré par la méthode de Nissl.

NEGRONI fait paraître en 1936 une étude sur *La capsule des levures*. Il emploie la méthode de coloration de Hunton et conclut qu'il existe trois groupes de levures :

- a. — Celles qui forment une capsule.
- b. — Celles qui produisent une substance intercellulaire.
- c. — Celles qui ne produisent ni capsule, ni substance intercellulaire.

Mais la description morphologique de la capsule reste incertaine puisqu'elle se borne à ceci : « Il y a des groupes de levures dont la capsule présente des bords nets..., d'autres dont la capsule présente des limites diffuses..., finalement, il existe des levures qui ont une capsule tellement mince qu'elle se réduit à un anneau fortement coloré. »

Dans une étude antérieure (1935), il avait décrit chez *Mycotorula (Candida) albicans* une capsule (visible par la coloration de Hunton) stratifiée, dont les feuillets emboîtés les uns dans les autres pouvaient être clivés. Malheureusement, cet aspect ne fut obtenu qu'après avoir soumis les cellules de levures à des traitements plus ou moins traumatisants, tels que lavages répétés, action de la soude, du formol, du bicarbonate de sodium et du borate de sodium.

RECHERCHES PERSONNELLES

Ainsi, alors que l'étude de la capsule bactérienne a été entreprise par un grand nombre de chercheurs, les microbiologistes s'intéressèrent fort peu à la morphologie des capsules des levures. La plupart des études sont anciennes ; les descriptions données paraissent fantaisistes et beaucoup n'ont pu être vérifiées. Seuls POTRON (1903) et DE BUSSCHER, SCHERER et THOMAS (1938), par des méthodes

de coloration différentes, obtinrent les mêmes résultats. Malheureusement, leurs recherches restent cantonnées à un très petit nombre de levures, appartenant à deux ou trois groupes seulement.

Nous avons repris ces recherches en les étendant à un grand nombre de levures, de genres et d'espèces différents. Après des examens multiples, nous pouvons conclure que :

- 1) toutes les levures sont capsulées ;
- 2) cette capsule présente des caractères particuliers à une espèce donnée.

Nous avons d'abord envisagé :

I. — LA MORPHOLOGIE GÉNÉRALE DE LA CAPSULE

Avec la méthode de coloration de Churchman et Emelianoff, elle apparaît comme un halo plus ou moins large, rose pâle, entourant

PLANCHE VI

FIG. 1. — *Saccharomyces uvarum*. — Culture de 30 jours. Aspect typique des vieilles cultures. Les cellules jeunes sont fortement colorées, alors que les cellules mortes perdent toute affinité tinctoriale et laissent seulement apercevoir la capsule vide.

FIG. 2. — *Rhodotorula*. — Souche 1.040 indéterminée. Culture de 30 jours. Epaississements bipolaires intracapsulaires précédant le bourgeonnement somatique.

FIG. 3. — *Saccharomyces cerevisiae*, var. *annulatus*. — Culture de 30 jours. Asque contenant deux ascospores avec épiplasma.

FIG. 4. — *Hanseniaspora guilliermondi*. — Culture de 3 jours. Deux cellules : la cellule-mère arrondie a donné naissance à une cellule-fille qui reste attachée à la cellule-mère par un filet cytoplasmique. Dans la capsule de la cellule-mère, existence d'un filament circulaire flexueux très net. De plus, la capsule présente une éleveure polaire correspondant au futur point de bourgeonnement.

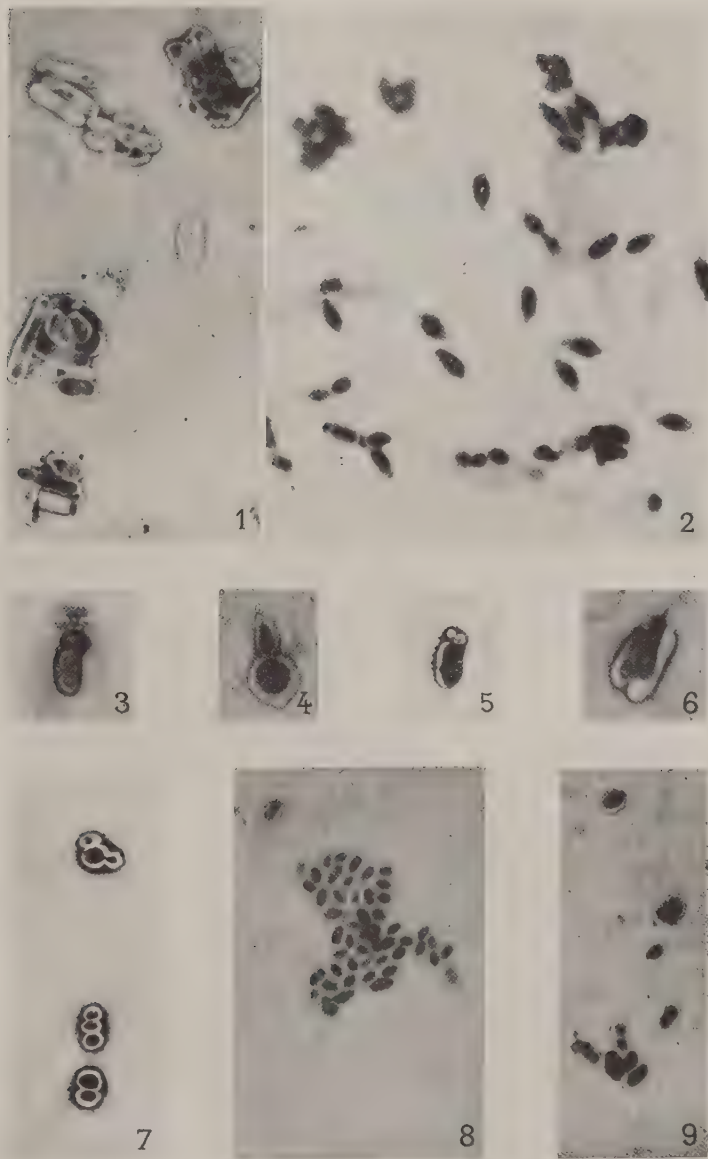
FIG. 5. — *Rhodotorula aurantiaca*. — Culture de 3 jours. Une seule cellule avec deux bourgeons très jeunes : l'un est formé seulement d'un renflement de la capsule ; l'autre est déjà habité par un prolongement intracapsulaire du soma. Souche n° 80.

FIG. 6. — *Saccharomyces pastorianus*. — Culture de 21 jours. Deux asques à trois ascospores, celles-ci, avec leur épiplasma, à cheval sur leur capsule.

FIG. 7. — *Rhodotorula glutinis*, var. *rubescens*. — Culture de 24 heures. Ensemble de cellules ayant bourgeonné : les cellules-filles restent accolées à la cellule-mère, dont elles sont séparées par un espace clair sans cloison. La capsule entoure tout l'ensemble. Souche n° 86.

FIG. 8. — *Pichia membranifaciens*. — Culture de 21 jours. Ascospores indiquées par une flèche. Angles dièdres capsulaires visibles. Souche n° 1.038.

FIG. 9. — *Pichia membranifaciens*. — Culture de 21 jours. Groupe d'ascospores indiquées par une flèche, avec leur épiplasma. Souche n° 1.038.



de toutes parts le corps cellulaire bleu foncé et limité extérieurement par une zone linéaire très nette, fortement colorée en rouge pourpre (pl. IV, fig. 1). Cette zone linéaire externe, que l'on retrouve chez les bactéries, correspond à la *cuticule capsulaire* ou *ectoplasme* de Churchman et Emelianoff.

Lorsque les cellules sont réunies en plages, cette cuticule est surtout nette à la périphérie de la nappe cellulaire (pl. IV, fig. 1). Les cellules accolées les unes aux autres délimitent entre elles des angles dièdres, qui sont rendus très visibles par l'accumulation du colorant, sous forme d'un petit triangle ou d'un losange pourpre. L'existence d'une capsule autour de chaque élément de levure donne un aspect particulier aux plages cellulaires. Chaque cellule à soma fortement coloré est entourée d'une zone claire qui prend contact avec la zone claire ou « zone de répulsion » (POTRON) d'une autre cellule. L'ensemble forme une sorte de mosaïque. Celle-ci est encore plus manifeste lorsqu'on examine de vieilles cultures. Les cellules en sénescence présentent un soma ou corps cellulaire qui perd peu à peu tout pouvoir tinctorial pour disparaître avec la mort de la cellule. C'est alors que l'aspect en mosaïque est le plus caractéristique (pl. V, fig. 2). Les cellules mortes ont complètement disparu et comme seul vestige de leur présence subsistent les capsules qui ont gardé la forme de l'ancien hôte.

Cette disposition générale se retrouve encore chez les levures qui filamentisent (comme les *Candida*, certains *Saccharomyces*, les *Endomycopsis*) ; les filaments issus des blastospores sont entourés de toutes parts d'une gaine qui présente les mêmes caractéristiques morphologique et tinctoriale que la capsule de la blastospore (pl. III, fig. 1 et 2). Dans un chapitre ultérieur, nous verrons que cette gaine n'est autre chose que la capsule même de la blastospore qui s'est étirée au point de germination, sans qu'il n'y ait jamais eu solution de continuité.

Voilà la description générale de la capsule telle qu'on la retrouve dans un grand nombre d'espèces de levures. C'est ainsi qu'elle apparaît chez les genres *Candida*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, qui sont parmi les plus connus.

A cette structure d'ensemble, la coloration fine et bien différenciée de Churchman et Emelianoff va permettre de décrire certains *détails internes*.

En effet, cette structure n'est pas simple. WILL (1896) et CASAGRANDE (1897) affirmaient déjà l'existence d'une stratification se manifestant par une striation concentrique, surtout sur les globules

âgés. Cette particularité fut retrouvée par KUNSTLER et BUSQUET (1898) chez *Saccharomyces cerevisiae* où ils décrivent une enveloppe résistante, réfringente, d'aspect hétérogène et présentant des alternances de couches claires et de couches sombres. VUILLEMIN (1900) confirme cette disposition qu'il retrouve chez *Saccharomyces granulatus*. Les strates seraient d'autant plus nombreuses que la levure serait plus âgée. Cette même notion de stratification est encore affirmée par NEGRONI (1935) pour *Mycotorula (Candida) albicans*. Voici sa description : « La capsule, réduite à une ligne aux points de contact des cellules, grossit vers les côtés en se décomposant par occasion (spécialement après avoir lavé avec de l'eau) en une série de feuillets stratifiés, comme s'il s'opérait un clivage. Parfois, elle éclate et il persiste, collés au pôle de cellules, des restes filamenteux en franges... » Une photographie vient concrétiser cette description. NEGRONI, toutefois, déclare que l'aspect normal de la capsule est d'être figurée par un ectoplasme linéaire et que l'apparition des stratifications pourrait être due à un artifice de préparation.

L'existence de cette architecture interne de la capsule a donc été établie par la plupart des auteurs et nous-mêmes ne saurions la nier. Nous l'avons retrouvée cependant assez rarement ; elle ne paraît pas l'apanage d'un genre de levure donné, permettant de le caractériser, mais semble appartenir à la structure capsulaire en général. Nous avons pu la mettre en évidence dans des groupes de levures très divers que nous réunissons dans le tableau suivant :

GENRE	ESPÈCE	DATE D'APPARITION ET OBSERVATIONS
<i>Candida</i>	<i>albicans</i> , souche 118.	Culture de 3 jours.
»	<i>reukaufii</i> .	Culture de 3 jours.
<i>Nadsonia</i>	<i>fulvescens</i> .	Culture de 15 jours (pl. 00, fig. 31 et 32).
<i>Endomyces</i>	<i>magnusi</i> .	Cultures du 3 ^e au 15 ^e jour. Nombreux feuillets concentriques par emboîtement réciproque.
<i>Rhodotorula</i>	<i>bronchialis</i> .	Culture de 8 jours.
»	Souche 1069.	Culture de 30 jours. Les stratifications forment 3 assises très nettes.

La capsule, alors particulièrement développée, présente des alternances de zones sombres et de zones claires, donnant une impression de stries concentriques par emboîtement réciproque. Leur apparition est indépendante de l'âge de la culture, on les retrouve aussi bien dans des cultures jeunes, de trois jours, que dans des cultures plus âgées, de trente jours. Le nombre de stratifications paraît aussi peu influencé par l'âge. Enfin, fait particulier, cette striation circulaire persiste après la mort de la cellule, alors même que le soma a disparu. Cette image fut observée sur une préparation d'une culture au huitième jour de *Rhodotorula bronchialis* ; la capsule, vide de son soma, présentait ses deux parois interne et externe colorées en rose, avec quelques stries entre elles deux.

Cet aspect architectural ne peut donc plus être mis en question ; mais, fait particulier et encore inédit, semble-t-il, la capsule nous a paru posséder une architecture interne beaucoup plus variée et très curieuse.

C'est ainsi que nous avons pu mettre en évidence les aspects suivants :

1° Au sein même de la capsule, se dessine chez certaines levures une formation linéaire, flexueuse, entourant le soma cellulaire de toutes parts, mais ne prenant jamais contact ni avec ce dernier, ni avec l'ectoplasme capsulaire. On a donc l'image d'un anneau plus ou moins flexueux. La réaction tinctoriale est celle de l'ectoplasme capsulaire lui-même. Cette ligne divise alors la capsule en deux parties présentant inconstamment des réactions tinctoriales différentes : la zone interne périsonatique reste incolore, tandis que la zone externe prend une teinte rose pâle.

Cet aspect semble fréquent, nous l'avons retrouvé dans un grand nombre d'espèces (tableau de la p. 84).

La signification de cette formation linéaire nous échappe, mais l'ébauche d'autres lignes semblables, plus ou moins complètes, donne à certaines levures un aspect stratifié assez net (pl. VII, fig. 2), différent cependant de celui décrit précédemment où les stratifications nous apparaissaient comme des zones contrastées par opposition de réfringence.

2° Au sein même de la capsule, des formations linéaires très particulières coexistent d'ailleurs très souvent avec celles précédemment décrites. La fig. 2 (pl. VII) d'une préparation d'une culture au troisième jour d'*Endomycopsis capsularis* objective bien cette architecture. De la paroi externe de la capsule, partent des filaments, à même réaction tinctoriale que l'ectoplasme lui-même ; ils s'incurvent, se rejoignent, formant des sortes d'arcades dont les

GENRE	ESPÈCE	DATE D'APPARITION ET OBSERVATIONS
<i>Candida</i>	<i>humicola</i> .	Cultures de 24 heures et de 3 jours.
<i>Rhodotorula</i>	Souche 1081.	Cultures de 15 jours, la capsule restant entièrement colorée en rose pâle.
»	Souche 610 (Saint-Jean).	Culture de 3 jours.
»	<i>aurantiaca</i> .	Cultures de 15 et 30 jours. La capsule est divisée en 2 zones, l'interne reste transparente, incolore, l'externe est colorée en rose pâle.
»	<i>bronchialis</i> .	Cultures de 8 et 30 jours.
»	<i>glutinis</i> , var. <i>rubescens</i> .	Culture de 3 jours. Des 2 zones ainsi délimitées, l'interne est colorée en rose pâle, l'externe est incolore.
»	<i>rubra</i> .	Culture de 3 jours.
<i>Schwanniomyces</i> ..	<i>occidentalis</i> .	Culture de 2 jours.
<i>Endomycopsis</i>	<i>capsularis</i> .	Culture de 15 jours.
<i>Endomyces</i>	<i>magnusi</i> .	Culture de 15 jours. La zone externe ainsi délimitée est colorée en violet clair, la zone interne en bleu pâle.
<i>Saccharomyces</i>	<i>uvarum</i> .	Cultures de 15 et 21 jours.
»	<i>fragilis</i> , souche 998 bEp.	Culture de 15 jours.
<i>Hanseniaspora</i>	<i>guilliermondii</i> .	Culture de 3 jours.
<i>Torulopsis</i>	<i>pulcherrima</i> .	Cultures de 2 et 8 jours.
»	<i>utilis</i> .	Culture de 15 jours.
»	<i>lipofera</i> .	Culture de 2 jours.

clés de voûte n'ont aucun point de contact avec le soma. Le plus souvent, une fraction de la circonférence capsulaire est occupée par

ces arcades qui n'excèdent guère le nombre de cinq ou six. L'autre fraction, libre, est alors fréquemment parcourue par la formation linéaire déjà décrite. La netteté de ces images n'est pas toujours aussi absolue et se réduit à des prolongements qui rejoignent l'ectoplasme à la ligne intracapsulaire.

Voici les espèces chez lesquelles nous avons retrouvé ces images :

GENRE	ESPÈCE	DATE D'APPARITION ET OBSERVATIONS
<i>Endomycopsis</i>	<i>capsularis</i> .	Culture de 3 jours. Image reproduite dans la photo n° 2, pl. VII. Ces images se retrouvent dans les cultures de 8 et de 15 jours.
<i>Rhodotorula</i>	Souche 1.069.	Culture de 24 heures.
»	<i>mucilaginos</i> a.	Culture de 24 heures. Chez ces deux souches les arcades sont moins nettes. L'anneau intracapsulaire donne des prolongements qui prennent contact avec l'ectoplasme.

3° Chez quelques levures, et en particulier les genres *Torulopsis* et *Rhodotorula*, nous avons observé des images très curieuses. L'intérieur de la capsule est occupé par de nombreux grains rouges, équidistants et régulièrement répartis sur une ligne circulaire située à peu près à égale distance entre le corps cellulaire et la limite externe de la capsule. C'est l'image assez parfaite d'une couronne. De ces granulations, partent de nombreux filaments rouges, flexueux, se dirigeant soit vers l'ectoplasme, soit vers le corps cellulaire. La photographie n° 3, pl. VIII d'une culture de cinq jours de *Torulopsis lipofera* montre cette couronne, et l'on devine les filaments qui en partent. Ces images, difficiles à rendre par la photographie, sont en fait d'une grande netteté au microscope, car leur couleur rouge vif contraste sur le fond absolument transparent de la capsule.

Nous les avons observé chez :

GENRE	ESPÈCE	DATE D'APPARITION ET OBSERVATIONS
<i>Rhodotorula</i>	<i>mucilaginos.</i>	Cultures de 24 heures et 5 jours. Les granulations rouges, régulièrement réparties en couronne, se rapprochent en certains points du soma, donnant des images un peu analogues à celles décrites par Potron chez <i>Torulopsis neoformans</i> . En d'autres points elles s'écartent du soma et sont rattachées à l'ectoplasme capsulaire par de fins filaments rouges.
»	Souche 1069.	Culture de 8 jours.
<i>Torulopsis</i>	<i>laurentii</i> .	Culture de 24 heures. Granulations et filaments traversent l'espace capsulaire de part en part.
»	<i>lipofera</i> .	Culture de 5 jours. Les grains en couronne sont situés à une égale distance entre le soma et l'ectoplasme capsulaire. Les filaments qui en partent s'attachent à l'ectoplasme.
»	<i>flavescens</i> .	Culture de 15 jours. Couronne de grains sans filaments afférents.

Que ce soient formations en arcades ou couronnes de grains, ces images n'apparaissent que dans les cultures jeunes, de un à cinq jours, et, pour une seule souche, *Torulopsis flavescens*, elles persistaient au quinzième jour de culture.

Nous ne pensons pas que ces formations soient un artifice de préparation, nous les avons retrouvées à maints examens de cultures de même âge, et leur aspect était toujours semblable, même

situation intracapsulaire, même union avec l'ectoplasme par de fins filaments.

Nous n'avons pas encore parlé des limites mêmes de la capsule.

1° La limite externe ou ectoplasme est toujours visible, elle se colore en rouge violacé plus ou moins intense. Elle apparaît soit sous forme d'une ligne circulaire continue et homogène et c'est le cas le plus fréquent, soit sous forme d'une juxtaposition linéaire de granulations rouges plus ou moins volumineuses selon les cas, le colorant ayant été comme attiré et retenu par la capsule, peut-être par un phénomène de tension superficielle. Très souvent, l'ectoplasme capsulaire est alors entouré d'une zone réticulée rouge.

Le tableau ci-dessous indique les levures chez lesquelles nous avons vu cette disposition granuleuse de l'ectoplasme :

GENRE	ESPÈCE	DATE D'APPARITION ET OBSERVATIONS
<i>Torulopsis</i>	<i>neoformans</i> , souche n° 12.	
	Souche n° 812.	Culture de 24 heures.
»	<i>flavescens</i> .	Cultures de 24 et 48 h.
»	<i>albida</i> .	Culture de 3 jours.
<i>Schwanniomyces</i> ..	<i>occidentalis</i> .	Culture de 2 jours.
<i>Saccharomyces</i>	<i>muciparis</i> .	Culture de 2 jours.
<i>Rhodotorula</i>	<i>aurantiaca</i> .	Culture de 24 heures.
»	Souche 610 (Saint- Jean).	Culture de 30 jours.
»	Souche 1069.	Culture de 8 jours. L'ec- toplasme est formé, pour certaines capsules, de grains accolés dis- posés en plusieurs cou- ches.
»	<i>humicola</i> .	Culture de 24 heures.

2° La limite interne est plus difficile à mettre en évidence. Elle est le plus souvent linéaire ; dans un cas seulement (*Torulopsis laurentii*), nous l'avons vu formée par la juxtaposition de granulations. Sa réaction tinctoriale est celle du bord externe de la capsule. Sa difficulté de visibilité est due au fait qu'elle est accolée au soma et seule la disparition du corps cellulaire laisse apparaître ce bord

(pl. VIII, fig. 1). Cependant, dans certains groupes de levures, et en particulier chez les *Torulopsis*, son existence est indéniable, sa visibilité parfaite, puisque la capsule est toujours séparée du corps cellulaire par un espace libre entourant celui-ci à la façon d'un anneau de Saturne.

II. — MORPHOLOGIE PARTICULIÈRE AUX *TORULOPSIS*

Cette description détaillée de la capsule ne saurait être complète si nous n'envisagions le genre *Torulopsis*, dont la morphologie capsulaire est bien particulière, à tel point qu'elle permet à elle seule le diagnostic du genre et dans certains cas de l'espèce elle-même.

Ce genre revêt une grande importance en pathologie humaine. Les méningo-encéphalites à *Torulopsis neoformans* (= *histolytica*) sont connues et redoutées des praticiens. Nombreuses sont les publications cliniques sur son pouvoir pathogène, les études histologiques sur son aspect dans les tissus. Peu d'auteurs ont étudié sa capsule dans les milieux de culture. Cependant, POTRON (1903) et DE BUSSCHER, SCHERER et THOMAS (1938), par des méthodes différentes, trouvèrent les mêmes aspects de striations transversales rigides, semblables à des piquants.

L'examen de nombreuses souches nous a permis d'aboutir aux résultats suivants :

Dans le milieu de culture glycosé à 2 p. 100, tous les représentants du genre *Torulopsis* étudiés par nous présentent une capsule très importante. Sa taille est souvent deux ou trois fois plus développée que celle des plus grandes capsules des autres levures. On y distingue :

1. — Un bord interne toujours situé à une certaine distance du corps cellulaire. Il se colore en rouge et présente un aspect soit linéaire, uniforme, soit irrégulier, formé par la juxtaposition de grains rouges.

2. — Un bord externe ou *ectoplasme*, rouge, soit linéaire, soit le plus souvent composé de granulations rouges, accolées les unes à côté des autres sur un seul rang.

L'ensemble de la levure donne l'aspect suivant : un centre, formé par le corps cellulaire, globoïde, coloré en bleu violacé, entouré de toutes parts par un large anneau rose, celui-ci laissant toujours un espace libre entre lui et le corps cellulaire. Cet anneau est souvent très large et peut atteindre en largeur deux fois la taille du soma.

Cet aspect n'est visible que dans les cultures jeunes, jusqu'au cinquième jour environ ; lorsque la culture vieillit, l'espace libre entre soma et capsule diminue et le bord interne de la capsule tend à s'accoler au soma. Il n'est alors plus possible de le voir, et il n'apparaît que chez les levures mortes ou à capsules déshabitées (pl. VIII, fig. 1). Le bord externe se continue souvent, lorsqu'il est formé de grains juxtaposés, par une zone d'étendue variable, finement réticulée et se colorant en rouge comme l'ectoplasme.

3. — A l'intérieur de la capsule, les images sont variées. On y retrouve les formations linéaires déjà décrites, mais surtout, et avec la plus grande netteté, la capsule présente une couronne formée de grains juxtaposés et qui constituent le point de départ de nombreux filaments traversant la capsule de part en part. La fig. 3, pl. VIII, illustre cet aspect.

Dans d'autres espèces, telles *Torulopsis laurentii* et *T. albida*, la capsule est finement réticulée, sans qu'on puisse y découvrir de relais granuleux (pl. VIII, fig. 8).

Mais c'est *T. neoformans* qui présente l'architecture capsulaire la plus particulière. POTRON (1903), après coloration d'une émulsion de culture par le bleu de toluidine, en solution aqueuse concentrée, décrit ainsi la capsule : « La cuticule est loin d'être lisse. Elle offre de petits tubercules disposés de façon régulière en lignes parallèles... A un degré plus avancé de coloration, on s'aperçoit que chacun des petits tubercules n'est que la base d'une sorte d'aiguillon acéré, coloré en violet pâle, rigide et rectiligne, atteignant exactement en hauteur la dimension de la zone de répulsion que nous signalions au début... Ainsi donc, loin d'être nu, ce blastomycète possède un revêtement très spécial qui rappelle celui des fruits du châtaignier et l'on ne peut mieux comparer la quantité de « piquants » qui l'ornent qu'à celle qui hérisse la surface de la châtaigne. »

Les mêmes images furent retrouvées par DE BUSSCHER, SCHERER et THOMAS (1938) qui employèrent la coloration de Nissl.

Nous avons repris ces différentes méthodes avec un inégal succès. Jamais par la méthode de Nissl, avec emploi de la *thionine* à 1 p. 100, nous n'avons pu mettre en évidence les images décrites par les auteurs. Nous avons été plus heureux avec la coloration au *bleu de toluidine* à 1 p. 100 : nous avons d'une part retrouvé les images en bogue de châtaigne décrites par POTRON et, d'autre part, un aspect assez curieux que nous ne saurions mieux comparer qu'à un œuf humain embryonné, de un mois et demi, époque où il est entièrement recouvert de villosités choriales. En effet, l'aspect est le sui-

vant : le corps cellulaire est entièrement entouré d'un fin chevelu de filaments colorés en rouge, flexueux et qui occupent toute l'épaisseur de la capsule, l'ectoplasme capsulaire formant leur limite en dehors. Malheureusement, opérant en milieu liquide, nous n'avons pu photographier ces images, car notre appareil nécessite l'inclinaison du microscope. Lorsqu'on modifie la méthode de Nissl, en remplaçant le bleu polychrome de Unna par le bleu de toluidine, et le différentiateur de de Gothard par l'eau acétifiée à 1 p. 500, on obtient à peu près les mêmes images. C'est par la coloration au Giemsa que nous avons obtenu les plus belles figures. La fig. 5 (pl. VIII) d'une culture de deux jours de *Torulopsis neoformans* (souche 858) illustre cet aspect. POTRON, qui malheureusement ne donne aucune photographie des images décrites, a dessiné quelques schémas explicatifs. Les « piquants » partent de la membrane même du soma et, rectilignes, aboutissent à la limite externe de la capsule. Sur nos préparations, ces striations n'ont aucun point de contact avec le corps cellulaire, elles partent du bord interne capsulaire qui, de ce fait, paraît dense, épais et fortement coloré, et se dirigent en rectitude vers le bord externe de la capsule.

Cette disposition capsulaire, propre à *T. neoformans*, permet à elle seule le diagnostic de l'espèce. On ne la retrouve dans aucune autre espèce du genre *Torulopsis*, ni d'aucun autre genre.

III. — DISCUSSION

Après une aussi longue description, il nous paraît difficile de mettre en doute l'existence même de la capsule. Elle ne peut être un artifice parce que :

1. — Par d'autres méthodes que celle adoptée dans notre étude, nous obtenons les mêmes images capsulaires.

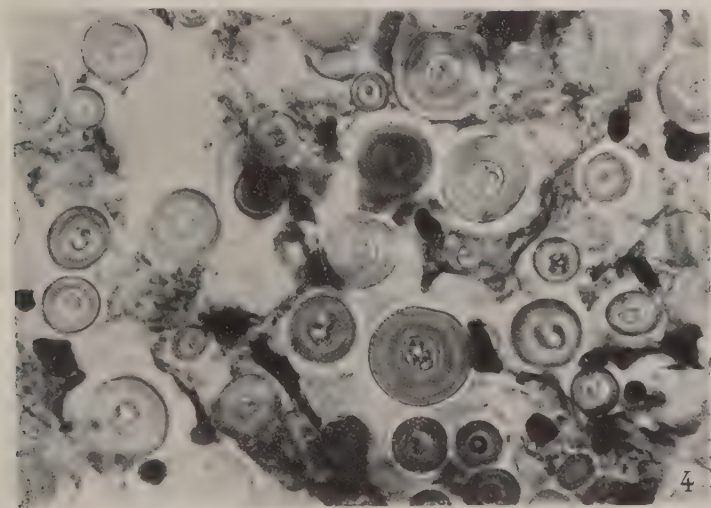
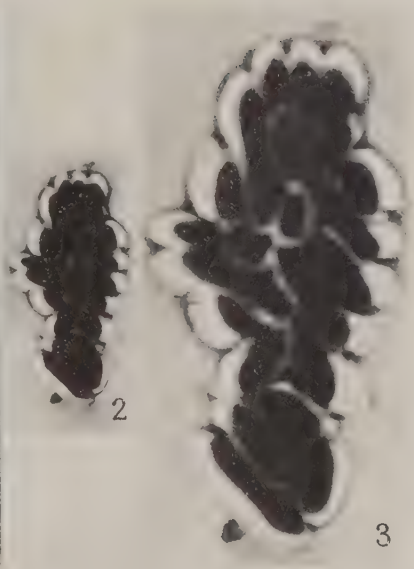
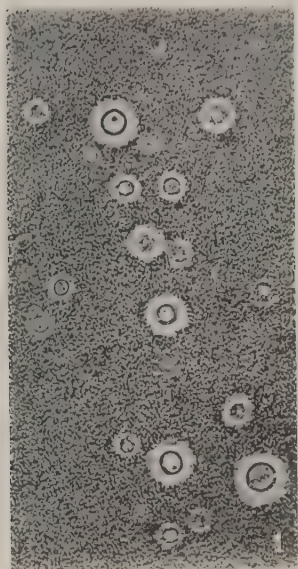
PLANCHE VII

FIG. 1. — *Torulopsis neoformans*. — Culture première examinée en Lugol. Aspect réticulé de la capsule bien développée. Cas Ducuing, Toulouse. Souche n° 632.

FIG. 2. — *Endomycopsis capsularis*. — Culture de 3 jours. Plage cellulaire avec, à la périphérie, une capsule très développée et présentant des stratifications plus ou moins sinueuses. Souche 131.

FIG. 3. — Agrandissement de la fig. 2, montrant les arcades et les lignes intracapsulaires.

FIG. 4. — *Torulopsis neoformans*. — Coupe de torulose expérimentale du cobaye, cas Babet et Genevray. Coloration par l'hémalum-érythrosine-safran. Belles stratifications.



2. — La capsule se colore d'une manière différente du corps cellulaire.

3. — Les différentes images intracapsulaires que nous avons décrites ont été retrouvées à maints examens de souches d'âges différents. Lors de ces examens, nous les avons revues, toujours avec le même aspect que chez les seules souches où nous les avons décrites. Dans d'autres genres, où nous les avons cherchées maintes fois, il ne nous a pas été possible de les découvrir.

4. — La capsule épouse le plus souvent la forme exacte du corps cellulaire ; cependant, dans certaines espèces, lors du bourgeonnement, elle subit une transformation qui lui est propre et qui précède toute division du corps cellulaire. Elle peut aussi présenter des irrégularités ne correspondant nullement à des images semblables du soma.

5. — Fait particulier, qui à lui seul permet de ne pas mettre en doute l'existence de la capsule, celle-ci donne une impression remarquable de rigidité. BERNSTEIN (1941) en avait été frappé pour la capsule du bacille de Neisser. Les aspects en mosaïque illustrent ce fait (pl. V, fig. 2). En effet, lorsque les cellules sont mortes, le corps disparaît, mais la capsule reste longtemps intacte, reproduisant la forme primitive du soma disparu.

Par ailleurs, il est fréquent de voir le corps cellulaire expulsé pendant la coloration hors de la capsule ; il est alors soit à cheval sur le cadre rigide de celle-ci, soit à une certaine distance d'elle, étant alors absolument nu, sans aucune trace de capsule, pl. V, fig. 3, 4 et pl. VI, fig. 6, 28). A un moindre degré, on trouve le soma excentré à l'intérieur de la capsule.

Lorsque les cellules sont réunies en plages, l'aspect le plus fréquent est celui-ci : chaque cellule s'accole à sa voisine par le bord externe de sa capsule, ces deux bords superposés donnent une impression de surépaisseur, le contact cesse aux pôles où le colorant est retenu, donnant des images en losange, en triangle. Parfois, il n'en est pas ainsi, l'ectoplasme capsulaire n'étant plus parfaitement rectiligne, l'accrolement se fait mal et il est très facile de voir les bords de deux cellules voisines, côte à côte, mais non confondus. Lorsque plusieurs cellules s'accolent, elles laissent alors entre elles un espace angulaire assez considérable pour que le colorant ne s'y accumule pas. Cet espace est alors libre et l'on peut suivre l'ectoplasme respectif des cellules qui le limitent.

6. — Cette capsule est bien individualisée, puisque le corps cellulaire peut se diviser en son sein, s'accroître, la cellule fille s'isoler de la cellule mère, sans qu'en aucun cas la capsule se soit rompue.

Elle s'étrangle seulement au niveau de la zone de séparation entre les deux cellules. Parfois même, plusieurs cellules issues de divisions successives restent incluses dans une capsule commune.

III. — MODIFICATIONS DE LA CAPSULE SOUS DIFFÉRENTES ACTIONS

Contrairement à une opinion ancienne, la capsule est d'emblée bien développée, sa taille croît environ jusqu'au huitième jour de culture, puis elle reste stationnaire. « L'encapsulation est essentiellement un phénomène de la période de croissance logarithmique. » (MORISON, 1940). Dans les très vieilles cultures, de deux mois et plus, la capsule reste bien visible, alors que très souvent le corps cellulaire a disparu.

Par contre, les figures de stratifications par emboîtement réciproque se voient surtout dans les cultures jeunes, avec le maximum de fréquence les trois premiers jours.

Les milieux de culture influencent peu la taille de la capsule. Cependant, nous avons pu constater une nette diminution sur milieu P.C. (pomme de terre-carotte), sur le milieu de conservation de Sabouraud. Sur eau de pomme de terre, nous avons obtenu de belles capsules stratifiées avec *Torulopsis neoformans*, au bout de cinq semaines seulement, alors que dans les cultures jeunes, elles étaient réduites à une simple aréole entourant le corps cellulaire.

Par contre, sur milieux sucrés, la capsule se développe bien. Les hydrates de carbone qui ont donné les meilleurs résultats sont le glycose, le maltose, le saccharose, le galactose, le lactose, tous sucres bien assimilés par les levures.

Mais c'est surtout sur les milieux riches en substances azotées que l'on obtient les plus belles capsules. Nous avons cultivé nos souches sur gélose glycosée à 2 p. 100, peptonée à 1 p. 100, additionnée successivement de sulfate d'ammonium, nitrate de potassium, nitrate de sodium, nitrate de magnésium, phosphate d'ammonium, dans la proportion de un milligramme par centimètre cube. Dans tous les cas, les capsules étaient bien développées. Un milieu nous a donné les meilleurs résultats, c'est le milieu de Czapek-Dox (1).

(1) Formule du milieu de Czapek-Dox :

Nitrate de sodium	3 gr.
Phosphate bipotassique	1 gr.
Chlorure de potassium	0,5 gr.
Sulfate de magnésium	0,5 gr.
Sulfate ferreux	0,01 gr.
Sucrose (saccharose)	30 gr.
Gélose	15 gr.
Eau	Q.S. p. 1.000

En résumé, la capsule se développe bien sur tout milieu riche où la multiplication cellulaire se fait vite.

Enfin, nous rappellerons que la capsule est tout particulièrement développée lorsque la levure végète au sein d'un tissu animal. Sa taille peut alors être le triple ou le quadruple de celle du corps cellulaire. *Torulopsis neoformans* est un bel exemple de ce fait. Examinés dans le liquide céphalo-rachidien d'un sujet atteint de torulose ou chez l'animal infecté, les globules de levure sont entourés d'une énorme capsule réfringente, stratifiée.

Nombreux sont les auteurs qui ont noté la résistance particulière de la capsule aux agents chimiques. Seuls les acides et bases forts l'altèrent (DUBOS, 1946). NEGRONI (1936) a soumis sans succès la capsule de *Candida albicans* à six lavages successifs à l'eau distillée, à des lavages avec une solution à 2 p. 100 de borate et de bicarbonate de sodium, à l'action de solutions respectivement de 0,1 p. 100, 0,33 p. 100, 0,5 p. 100 de soude. La levure, mise au contact pendant 24 heures d'une solution à 0,5 p. 100 de formol (à 40 p. 100) ou de cinq volumes d'alcool-acétate (alcool à 96 degrés avec 13 p. 100 d'acétate de sodium), conserve encore après lavage à l'eau distillée une capsule intacte. Il faut atteindre des concentrations de 1 à 2 p. 100 de soude pour la détruire. Cependant, des solutions à 10 p. 100 de borate ou de bicarbonate de sodium modifient la morphologie capsulaire ; NEGRONI a vu alors la capsule de *Candida albicans* se dissocier en une série de lamelles stratifiées.

IV. — RAPPORTS DE LA CAPSULE ET DU BOURGEONNEMENT CELLULAIRE

L'étude du processus de multiplication des levures va nous arrêter un certain temps, à cause des modifications qu'il imprime à la capsule.

Le mode de multiplication asexuée des blastomycètes est le bourgeonnement, soit qu'il aboutisse à un élément fille analogue à la cellule mère par sa forme et ses caractères biologiques, soit qu'il y ait production d'un pseudo-mycélium à partir d'une blastospore.

Le plus généralement, la capsule se soulève en un point, en même temps que le soma présente une élevure. Celle-ci grandit peu à peu, se renfle ; sa base d'implantation sur la cellule mère devient de plus en plus mince. Pendant cette croissance, la capsule de la cellule mère s'étire sous la poussée du bourgeon, qu'elle entoure toujours étroitement. Puis lors de la séparation entre les deux cellules, la rupture se fait d'abord au niveau du soma. Une cloison d'origine

capsulaire se forme alors et elle se clivera pour libérer les deux cellules. Lorsque la séparation s'est opérée, il ne reste aucune trace du phénomène.

Ceci est contraire aux assertions de POTRON qui admet une rupture de la cuticule : « ...Le jeune globule en formation ne possède pour tunique que la strate la plus interne et la plus mince du globule maternel ; les autres couches externes, moins élastiques, se rompent et constituent au collet du bourgeon une sorte de collerette au travers de laquelle il sort. » Après la chute du bourgeon, il persisterait une cicatrice ombiliquée sur le globule maternel. En aucun cas, nous n'avons observé pareils faits.

Dans le cas où la cellule fille reste unie à la cellule mère, le cloisonnement décrit plus haut ne se produit pas, la capsule s'étrangle seulement entre les deux cellules. Dans d'autres cas encore, les somas se divisent tout en restant inclus dans la capsule, qui s'étire au fur et à mesure des divisions cellulaires, sans émettre de cloisons intercalaires (pl. VI, fig. 7).

Ce mode de bourgeonnement est le plus général, on le retrouve dans tous les genres et chez toutes les espèces de levures. C'est le mode classique par excellence, mais aucun auteur n'a encore jamais décrit le comportement capsulaire vis-à-vis des cellules et de leurs bourgeons. Qu'il y ait un ou plusieurs bourgeons, le processus est d'ailleurs le même.

Chez quelques espèces, à côté du mode habituel de bourgeonnement, nous avons observé des manifestations plus complexes, dont nous n'avons retrouvé aucune relation dans la littérature. Lorsque le bourgeonnement va se produire, la capsule est le siège de phénomènes bien particuliers. En un pôle de la cellule, et souvent aux deux pôles diamétralement opposés, la capsule subit un épaississement important, qui se traduit par une bande transversale, allant de part en part du soma à la cuticule, fortement colorée comme l'ectoplasme capsulaire. Lorsque les deux pôles sont épaissis, la levure, le plus souvent ovulaire, ressemble assez bien à un œuf de trichocéphale (pl. VI, fig. 2).

Cet épaississement se creuse bientôt en un étroit canal. C'est alors seulement que le soma émet une fine expansion protoplasmique qui s'engage dans le pertuis capsulaire. L'ectoplasme, qui limite le pertuis en dehors, se soulève ; le bourgeon, à sa sortie du canal se renfle, se coiffe de l'ectoplasme et lorsqu'il atteint une certaine taille, se détache de la cellule mère ; le pertuis se comble, mais l'épaississement persiste longtemps.

Nous avons observé ce phénomène chez quelques *Rhodotorula*, un *Hanseniaspora*.

Chez les *Torulopsis*, ce mode de bourgeonnement est fréquent, le plus souvent il est tel que nous venons de le décrire ; cependant, dans certains cas, l'épaississement n'existe pas et la capsule se creuse simplement d'un puits, sans modification d'épaisseur. Ce phénomène avait déjà été entrevu par POTRON chez *Torulopsis neoformans* où nous l'avons retrouvé. Cependant, pour cet auteur, il persistait longtemps après la séparation des deux organismes et une cicatrice ombiliquée marquait son emplacement. En fait, il est toujours contemporain d'une période de germination.

Dans les phénomènes de *blastèse* (LANGERON et GUERRA 1940), la capsule ne se rompt jamais. La blastospore émet un prolongement qui se coiffe de la capsule, la refoule devant lui, de telle sorte que la formation du filament initial est toujours intracapsulaire, sans aucune rupture de la capsule. Le comportement capsulaire est le même lorsqu'il y a formation de pseudo-mycélium. Chaque fragment de filament est entouré de la capsule ; lorsque le filament bourgeonne à son tour, la capsule subit le même étirement. Les fig. 2 (pl. III) et 5 (pl. VI) illustrent ce fait.

Chez les levures ascosporées, dont le rôle dans l'industrie est important, il existe un mode de reproduction sexuée qui est la formation des ascospores. Nous avons suivi leur formation en examinant des cultures d'abord très jeunes, puis de plus en plus âgées. L'ascospore n'apparaît le plus souvent que vers le quinzième jour de culture. Le protoplasme se condense en un point sous forme d'une tache colorée intensément en bleu foncé. Cette tache grandit et prend bientôt la forme caractéristique inhérente à une espèce donnée ; elle donne une impression de volume et non plus de surface : l'ascospore est formée.

Pendant cette transformation, le protoplasme, se condensant au maximum dans l'ascospore, perd par ailleurs ses qualités tinctoriales ; il devient uniformément bleu pâle ; il se rétracte. Lorsque l'asque est arrivé à maturité, le protoplasme ne forme plus qu'un reliquat peu important, c'est l'épiplasma, qui se colore par la méthode de Churchman et Emelianoff en bleu très pâle. L'ascospore bleu foncé semble incluse dans cet épiplasma, mais elle en reste toujours séparée par un espace circulaire paraissant vide. L'ectoplasme capsulaire, seule limite visible de la capsule, entoure de toutes parts l'asque ainsi formé.

V. — CARACTÈRES BIOLOGIQUES DE LA CAPSULE

Bien que l'étude biochimique de la capsule sorte du cadre morphologique de notre étude, nous résumerons rapidement l'état

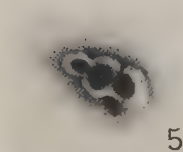
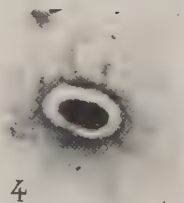
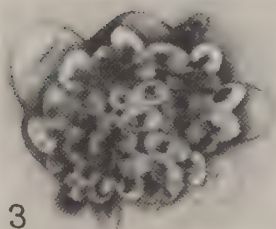
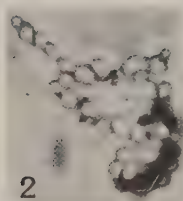
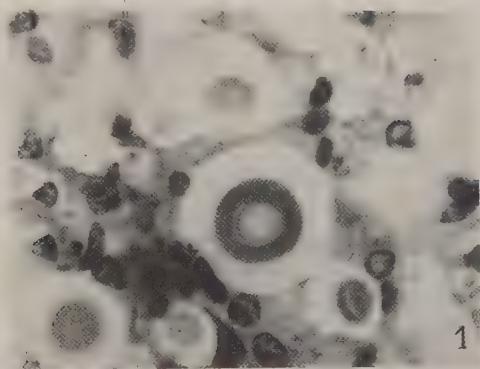
actuel de nos connaissances sur la nature chimique de la capsule, ses rapports avec le corps cellulaire, son rôle en immunologie.

A. Nature de la capsule. — Nous avons déjà attiré l'attention, dans un chapitre précédent, sur l'apparence rigide de la capsule des levures ; rigidité objectivée par l'aspect en mosaïque des plages cellulaires déshabitées et l'existence de non-concordance de forme entre la capsule et sa cellule.

Il faut rapprocher de cette rigidité la grande résistance de la capsule aux agents chimiques : seuls les bases et les acides forts la dissolvent. Cette « non-réactivité » remarquable a permis de poser l'hypothèse de son rôle protecteur mécanique des constituants cellulaires (R. DUBOS, 1946). POTRON, admettant déjà ce postulat, et inspiré par les travaux de MANGIN, avait cherché à mettre en évidence dans la capsule des levures les principales substances constitutives de la membrane végétale. Les résultats de ces travaux furent les suivants : la capsule ne contient ni cellulose, ni callose, ni composés pectiques, pourtant si répandus dans le monde végétal, ni lignine, cutine ou subérine. La chitine, si commune dans le revêtement des représentants du règne animal et même chez les champi-

PLANCHE VIII

- FIG. 1. — *Torulopsis pulcherrima*. — Culture de 24 heures. Très beau réseau de capsules vides, certaines à double contour. Souche n° 786.
- FIG. 2. — *Torulopsis laurentii*. — Culture de 8 jours. Plage cellulaire dont les cellules et leur capsule sont noyées par une abondante substance mucilagineuse. Souche n° 103.
- FIG. 3. — *Torulopsis lipofera*. — Culture de 5 jours. Souche n° 105. Une seule cellule où les grains rouges sont moins visibles que dans la fig. 4.
- FIG. 4. — *Torulopsis lipofera*. — Culture de 5 jours. Souche n° 105. Groupe de trois cellules incluses dans leur capsule, celle-ci présentant une magnifique couronne de grains rouges.
- FIG. 5. — *Torulopsis neoformans*. — Culture de 2 jours. Souche n° 858. Une cellule isolée. La capsule, bien développée, présente des striations rayonnantes ressemblant aux images décrites par Potron. Le soma est séparé de la capsule par un large espace clair.
- FIG. 6. — *Nadsonia fulvescens*. — Culture de 24 heures. Groupe de cellules dont la capsule, très hypertrophiée, est formée de couches imbriquées les unes dans les autres.
- FIG. 7. — *Torulopsis neoformans*. — Culture de 2 jours. Capsule réticulée, belle aréole claire périsonatique.
- FIG. 8. — *Torulopsis laurentii*. — Culture de 5 jours. Capsule très développée et réticulée.
- FIG. 9. — *Torulopsis neoformans*. — Coupe de lésion blastomycosique. Cas Rubens-Duval et Lœderich.



6



8

9

gnons, n'a pas davantage été mise en évidence. Mais il n'alla pas plus loin dans ses recherches. La capsule n'est donc formée d'aucune des substances habituellement rencontrées dans les membranes à rôle protecteur.

Des travaux plus récents, et d'ailleurs dépassant largement le cadre des blastomycètes, ont tiré au clair cette question de la nature chimique des capsules. Fait remarquable, il y a identité de nature chimique entre les capsules bactériennes et celles des levures.

Voici résumée l'opinion de R. DUBOS (1946) sur ce sujet : La substance capsulaire d'un grand nombre d'espèces bactériennes consiste essentiellement en polysaccharides de poids moléculaire élevé, souvent de nature acide, possédant souvent des groupes acétyl ou aminés, qui se présentent à l'état naturel sous forme de longues chaînes de polymères. La grande asymétrie de leur molécule rend compte de la viscosité de leurs solutions et de leur anisotropie de courant. Ces polysaccharides seraient spécifiques d'une espèce et même d'une souche déterminées. Cette spécificité chimique serait responsable de la spécificité immunologique des différents types sérologiques d'une espèce bactérienne pathogène.

Chez les levures, les recherches modernes ont aussi mis en évidence l'existence de polysaccharides. NEGRONI (1936) traite le matériel capsulaire par une solution de soude à 1 p. 100 à chaud, puis par l'alcool-acétate de sodium à 13 p. 100 qui donne un précipité. Les solutions aqueuses obtenues donnent une réaction de Molisch positive, elles ne réduisent pas la liqueur de Fehling, cette réduction ne s'obtenant qu'après hydrolyse par les acides à chaud (15 à 30 minutes d'ébullition sont nécessaires). Par hydrolyse, ces solutions aqueuses de substance capsulaire donnent du glycose décelable par la réaction du glycosazone.

Ce polysaccharide diffuserait dans le milieu de culture où on le précipite par l'alcool-acétate de sodium. Pour l'auteur, il est l'homologue de la « matière gommeuse » sécrétée par la membrane des levures. Cette notion de diffusion du polysaccharide capsulaire dans le milieu de culture a encore été formulée par J. MAGER et M. ASCHNER (1947). Ces auteurs retrouvent dans le milieu où végètent des levures encapsulées une substance polysaccharidique, dont la fraction carbo-hydrate est formée de 85 % de pentoses et 15 % d'hexoses.

Plus rarement, il est vrai, la capsule du bacille du charbon et de quelques autres bacilles aérobies sporulés semble formée d'un polypeptide d'acide d-glutamique (BONARNICK, 1942). Il semble que chez les levures, de tels faits n'aient pu être relevés.

B. Rôle de la capsule. Ses rapports avec le corps cellulaire. — On connaît peu de faits concernant l'origine de la capsule et ses rapports avec le corps cellulaire.

Pour les anciens auteurs, le corps sécrète une substance protectrice, sorte de membrane, d'abord en couche mince chez les globules jeunes, pour aboutir dans les vieilles cultures à une capsule épaisse, les stratifications étant le témoignage de cet apport continu de la cellule.

Quelques-uns considèrent la capsule comme étant une couche externe modifiée de la paroi cellulaire, formée par gonflement et gélatinisation de ses constituants.

Les bactériologistes modernes considèrent que la capsule bactérienne correspondrait à une accumulation autour de la cellule d'un produit excrété qui, par suite de sa viscosité et de propriétés spéciales du milieu, n'arrive pas à diffuser rapidement. A l'appui de leur théorie, ils invoquent plusieurs observations, comme le fait que les capsules sont toujours beaucoup plus développées lorsqu'on cultive les microorganismes dans du sérum ou des liquides tissulaires ou bien lorsqu'ils colonisent chez un hôte infecté. Ces milieux présentent en effet une grande viscosité.

Ces différentes notions sont peu acceptables pour les levures et il n'est pas exact de dire que la capsule est plus développée dans les vieilles cultures. Ces notions anciennes ne sont d'ailleurs plus admises de nos jours et nous avons montré dans un chapitre antérieur que le maximum de développement capsulaire avait lieu durant les premiers jours de culture.

Qu'il y ait sécrétion de la cellule, cela n'est pas impossible, bien que les réactions chimiques et tinctoriales de la capsule soient très différentes de celles du corps cellulaire.

Chez les levures, comme chez les bactéries, la capsule semble peu liée à sa cellule. Si on traite le pneumocoque du type III encapsulé par une diastase, celle-ci hydrolyse rapidement la capsule par dépolymérisation (DUBOS) et la fait disparaître sans que la vitalité de la cellule en soit affectée. En effet, si on transporte ces cellules décapsulées dans un milieu dépourvu de diastase, la multiplication cellulaire est intense et donne des pneumocoques parfaitement capsulés.

Il en est de même pour les levures dont le corps cellulaire peut se présenter à cheval sur sa capsule et même hors de celle-ci, tout en gardant les apparences tinctoriales d'une cellule jeune et vivante : protoplasme bien coloré, nombreuses granulations, grains de glycogène abondants.

Cette laxité structurale entre le corps cellulaire et sa capsule nous amène à parler du rôle de cette dernière.

La notion la plus ancienne était de lui octroyer un rôle protecteur. Il n'est plus guère admis actuellement. Mais les conceptions modernes ne sont toutefois que de simples hypothèses.

Au début du siècle, LAFAR (1906) avait déjà établi qu'à la fin de l'activité fermentative des levures, leur gaine muculagineuse est au maximum ; les gaines confluent pour former un « réseau gélatineux » ; de plus, la gomme retrouvée dans le milieu est un mucilage glycidique optiquement actif vis-à-vis de la lumière polarisée et dont l'hydrolyse ménagée par les acides donne du glycose.

Ce rôle sécrétoire de la capsule ne saurait être mis en doute actuellement. En effet, chez certaines levures, les *Torulopsis* en particulier, et dans certaines conditions qui ont été précisées par J. MAGER et M. ASCHNER (1947), la capsule produit de l'amidon décelable par sa coloration en bleu par l'iode. Sa production serait conditionnée avant tout par une croissance active de la levure, par la nature de la source d'azote (l'ion ammonium étant indispensable à ce métabolisme) et par un changement de pH tombant au-dessous de 5. L'apport de vitamines, telle la *thiamine* à la concentration de 0,2 mgr. par centimètre cube, est un bon adjuvant.

Ces auteurs expérimentèrent avec le même succès sur *Torulopsis rotundata* et de nombreuses autres espèces du même genre, en particulier *T. neoformans*.

Ce pouvoir sécrétoire de la capsule est complet, puisque l'on retrouve, d'une part, en son sein, à l'exclusion du corps, de nombreux grains d'amidon, et, d'autre part, la même substance dans le milieu de culture, soit sous forme de grains situés au voisinage de la capsule, soit à l'état dissous ; en effet, il suffit de traiter par l'iode le liquide obtenu après centrifugation pour faire apparaître une coloration bleue intense.

Le pouvoir sécrétoire de la capsule est complexe ; à côté de la production d'amidon, on retrouve toujours dans le milieu un autre polysaccharide, dont les propriétés sont tout à fait différentes de celles de la fraction amidon (MAGER et ASCHNER). Ce corps, retrouvé dans les extraits de capsules, se scinderait en pentoses et en hexoses. Lorsqu'on obtient des variantes non capsulées, il n'y a plus production de pentose.

Enfin, ces deux métabolismes sont indépendants, puisque la suppression de production d'amidon ne gêne en rien la sécrétion de ce polysaccharide.

Il est intéressant de noter que le maximum de développement

architectural de la capsule coïncide avec le maximum de production d'amidon. Il est alors difficile de concevoir la capsule comme une formation inerte, une simple condensation mucilagineuse, sorte de gel analogue à certaines capsules de pneumocoque mises en évidence par le microscope électronique.

De nombreuses levures, appartenant aux genres les plus variés, sécrètent une substance mucilagineuse pendant leur période de multiplication intense, correspondant d'ailleurs à la période de volume maximum de la capsule. Ce mucilage, assez visqueux pour ne diffuser que lentement dans le milieu, forme une atmosphère plus ou moins étendue autour des levures, qui sont comme agglutinées. C'est

GENRE	ESPÈCE	DATE D'APPARITION ET OBSERVATIONS
<i>Candida</i>	<i>krusei</i> .	5 ^e jour.
»	<i>tropicalis</i> .	24 heures. Encore important au 15 ^e jour.
»	<i>parakrusei</i> . (= <i>parapsilosis</i>).	Sécrétion très importante dès le 1 ^{er} jour de culture.
»	<i>guilliermondi</i> . Souche n° 8. Souche n° 418.	5 ^e jour.
»	<i>albicans</i> . Souche n° 111. Souche n° 118.	8 ^e jour. 21 ^e jour.
»	<i>intermedia</i> .	15 ^e jour.
<i>Saccharomyces</i>	<i>carlsbergensis</i> .	30 ^e jour.
»	<i>muciparis</i> .	8 ^e jour.
»	<i>fragilis</i> , souche 1049.	Dès le 1 ^{er} jour.
<i>Debaryomyces</i>	<i>matruchoti</i> .	15 ^e jour.
»	<i>hudei</i> .	8 ^e jour.
»	<i>klöckeri</i> .	5 ^e jour.
<i>Rhodotorula</i>	<i>bronchialis</i> .	15 ^e jour.
»	Souche 1069.	5 ^e jour.
<i>Torulopsis</i>	<i>laurentii</i> .	8 ^e jour (photo n° 18).
»	<i>neoformans</i> .	5 ^e jour.
<i>Schwanniomyces</i> ..	<i>occidentalis</i> .	5 ^e jour.
<i>Endomyces</i>	<i>magnusi</i> .	15 ^e jour.
<i>Schizosaccharomyces</i> .	<i>octosporus</i> .	30 ^e jour.
<i>Pichia</i>	<i>membranæfaciens</i> .	8 ^e jour.

alors que l'aspect macroscopique de la culture est caractéristique : les colonies sont coulantes, difficiles à prélever et encore plus difficiles à émulsionner. Pour certaines souches (*Candida tropicalis*), le mucilage se présente sous forme de gouttelettes semblant appendues à l'ectoplasme capsulaire. Mais, fait remarquable, quelle que soit l'importance de cette substance, elle ne modifie jamais l'aspect de la capsule qui se détache parfaitement sur le fond rose du mucilage (pl. VIII, fig. 2).

Il est donc difficile d'admettre que la capsule soit une simple condensation mucilagineuse sécrétée par le corps cellulaire.

Cette production est très fréquente, elle a été relevée par de nombreux auteurs et nous l'avons observée chez les espèces suivantes (tableau de la page 100).

C. La capsule en immunologie. — Depuis très longtemps déjà, les microbiologistes avaient été frappés par la taille particulièrement développée des capsules des bactéries et des levures pathogènes. Cette corrélation entre la virulence et l'encapsulation avait tout naturellement conduit à l'hypothèse que la capsule était une sorte d'armature protectrice des espèces pathogènes et, de plus, qu'elle était le siège même de cette virulence. A tel point que LEGROUX pouvait dire : « Une bactérie virulente pour une espèce animale l'est d'autant plus qu'elle présente une capsule et d'autant moins qu'elle en est dépourvue. »

Les recherches sur sa constitution chimique devaient conduire à des découvertes immunologiques. Les polysaccharides et les polypeptides spécifiques des germes pathogènes se comportent comme des haptènes, c'est-à-dire qu'ils réagissent spécifiquement avec les anticorps correspondants, sans pouvoir déterminer leur formation. En effet, si on les inocule à des lapins, ils ne produisent aucun anticorps, alors qu'ils réagissent fortement et spécifiquement avec le sérum de lapins immunisés avec des cellules bactériennes homologues intactes.

D'autre part, si on détruit la capsule, soit par une diastase hydrolysante (Dubos), soit par des lavages répétés, le corps bactérien retient inaltérée sa faculté de déterminer chez l'animal la production d'anticorps qui précipitent spécifiquement avec la substance capsulaire non antigénique.

Les résultats obtenus chez les levures sont en tous points semblables. Le matériel est assez restreint pour cette étude, les levures pathogènes étant une minorité. Aussi les recherches se limitent-elles à *Candida albicans* et surtout à *Torulopsis neoformans*, la seule véritablement pathogène.

C'est à NEGRONI (1936) que l'on doit les recherches sur *Candida albicans*. Il extrait d'une part le polysaccharide du milieu de culture par précipitation par l'alcool-acétate de sodium et d'autre part celui de la capsule elle-même, en lavant les cellules dans une solution de soude à 1 p. 100, puis en précipitant par l'alcool-acétate. Dans les deux cas, les polysaccharides obtenus flocculent en présence du sérum d'animaux préparés avec des souches de *Candida albicans*.

Il recherche, en outre, les réactions d'agglutination en présence d'un sérum spécifique. Pour cela, il divise en cinq lots une culture sur gélose glycosée de *Candida albicans* :

Le 1^{er} tube contient une suspension des levures dans la solution physiologique.

Le 2^e tube contient la suspension précédente, mais chauffée pendant une heure à 60 degrés.

Dans le 3^e tube, il recueille une suspension de levure lavée six fois par centrifugation dans la solution physiologique.

Le 4^e tube contient une suspension dans la solution physiologique de levures lavées par centrifugation, quatre fois dans une solution de soude à 1 p. 100, puis deux fois dans la solution physiologique.

Enfin, le dernier tube est une émulsion de levures maintenue à l'ébullition pendant dix minutes dans une solution de soude à 1 p. 100, puis lavée deux fois dans l'eau physiologique.

Il porte dans chaque tube à hémolyse 0,5 cm³ de la suspension cellulaire et 0,5 cm³ de la dilution du sérum spécifique. Il réserve deux tubes témoins. Il porte au bain-marie à 50 degrés pendant une heure.

Les résultats sont les suivants : l'agglutination se produit dans tous les tubes jusqu'à la dilution 1/200, au delà elle est inconstante. Elle est nulle dans le tube témoin sans sérum et dans le tube contenant du sérum normal.

Enfin, le polysaccharide issu de la capsule ou du milieu de culture donne une réaction de fixation du complément vis-à-vis de sérums de sujets atteints d'affections à *Candida albicans* ou de sérum animal traité par cette même levure.

Les médecins connaissent la haute virulence de *Torulopsis neoformans* et le grand développement que prend sa capsule sur l'hôte infecté.

Les animaux de laboratoire les plus sensibles sont le cobaye et la souris. La virulence varie selon les souches. Pour une souche virulente, l'inoculation par voies intrapéritonéale, intraveineuse et intracérébrale, soit du liquide céphalo-rachidien, soit d'une culture première, amène la mort de la souris dans un délai de 6 à 21 jours.

A l'autopsie, les poumons et le foie sont très atteints. Chez le cobaye, la résistance est plus grande, une inoculation intrapéritonéale de culture provoque la mort dans un délai de un mois et demi à deux mois. Chez cet animal, la localisation du parasite est cérébrale, et le développement capsulaire est deux et trois fois celui de la cellule.

Cependant, il semble peu probable que les phénomènes de virulence soient liés à la capsule. Nous avions à notre disposition plusieurs souches de *Torulopsis neoformans*, la plupart anciennes, ayant subi de nombreux repiquages et perdu tout pouvoir pathogène. Grâce à l'obligeance du Prof. MOLLARET, nous avons pu examiner une culture première d'une souche virulente, la capsule n'y était pas plus développée que sur les vieilles souches avirulentes de la mycothèque de l'Institut de parasitologie de la Faculté de médecine de Paris.

Accepter l'hypothèse du rôle de la capsule dans la virulence des *Torulopsis* conduisait tout naturellement à rechercher si elle n'était pas aussi capable de produire des anticorps protecteurs. Les essais d'immunisation de lapins ou de cobayes furent infructueux, que l'on fasse appel à des cultures tuées par la chaleur ou à des cultures vivantes très diluées, et quelle que soit la voie d'inoculation. Il ne fut jamais possible de créer ni anticorps, ni agglutinines, ni précipitines.

Ce défaut d'activité immunologique vient corroborer la suggestion de BENHAM, selon laquelle le matériel capsulaire est responsable de l'inertie immunologique des levures. Cette hypothèse est d'ailleurs confirmée par les données histopathologiques des lésions à *Torulopsis neoformans*, où aucune réaction de défense de l'organe infecté ne peut être relevée. Le tissu réticulo-endothélial paraît inerte et les cellules sont lysées, sans que cette invasion parasitaire suscite la moindre réaction de phagocytose, de prolifération cellulaire ou de réaction giganto-cellulaire.

CONCLUSIONS

Jusqu'à maintenant, l'existence de la capsule des levures n'avait été démontrée que chez un petit nombre d'entre elles. Les descriptions étaient restées imprécises et les seuls détails mis en évidence étaient la présence de stratifications et l'aspect épineux.

Cette pauvreté de connaissance semble due à une insuffisance des méthodes de coloration.

En utilisant l'excellent procédé de CHURCHMAN et EMELIANOFF, nous avons pu démontrer la constance de la capsule dans tous les genres et espèces de levures.

Cette technique nous a permis une description plus précise, faisant apparaître ainsi un certain nombre de nouveaux caractères architecturaux :

- | | |
|------------------------|---------------------|
| — Anneaux linéaires, | } intracapsulaires. |
| — Arcades, | |
| — Couronnes de grains, | |

Ces différents caractères, isolés chez certaines levures, sont réunis chez *Torulopsis neoformans*, se surajoutant ainsi chez elle à l'aspect déjà décrit en fruit de châtaignier.

Les modifications très particulières subies par la capsule lors des phénomènes de bourgeonnement des levures, jusqu'ici peu approfondies, ont été aussi précisées.

Nous avons complété ces données morphologiques par une mise au point des notions récentes concernant les propriétés chimiques et biologiques de la capsule.

BIBLIOGRAPHIE

- BERNSTEIN (H. T.). — Capsulation of *Neisseria gonorrhæe*. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, XLVI, 1941, 700-703.
- BORIN (P.). — Mise en évidence des capsules microbiennes par une nouvelle méthode à l'encre de Chine. *C.R. Soc. Biol.*, XCII, 1925, 406.
- BRENOT (J.). — *Contribution monographique à l'étude des colorants et des méthodes de coloration en Histologie et en Bactériologie*. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Vigot Frères, 1939, p. 21-28.
- DE BUSSCHER, SCHERER et THOMAS. — La méningite à *Torula*. *Revue Neurologique*, LXX, 1938, 149-168.
- BUTT, BONYNGE et JOYCE. — The demonstration of capsule about hemolytic streptococci with India ink or azoblue. *Jl. Inf. Dis.*, LVIII, 1936, 5.
- CASAGRANDE. — Ueber die Morphologie der Blastomyceten. *Ztrbl. Bakt.*, III, 1897.
- CHURCHMAN (J. W.) et EMELIANOFF (N. V.). — A study of the bacterial capsule by new methods. *J. Exp. Med.*, LVII, 1933, 485-510.
- DEBRÉ (R.), LAMY (M.), NICK (J.), Mlle GRUMBACH et NORMAND (E.). — Développement d'une méningite à *Torula histolytica* chez un enfant de 12 ans atteint de lymphogranulomatose maligne. *Bull. Acad. Méd. Paris*, CXXX, 1946, 443-449. — *Annales pédiatriques*, CLXVIII, 1947, 1-33.
- DICKMANN (G. H.), VETTO (A. A.) et NEGRI (Th.). — *Torulopsis* del sistema nervioso central (cerebello) de forma tumoral. *Rev. Neurol.*, Buenos-Ayres, VII, 1942, 347-360.
- DOSCH (F.). — Darstellung der Bakterienhüllen mit dem Chemotherapeuticum Prontosil solubile. *Ztrbl. Bakt.*, 1, CXLIX, 1942, 56-80.

- DUBOS (R.). — *The bacterial cell*, 1946, p. 36. Harvard University monograph in medicine and public health., n° 6. Cambridge (Mass.), XIX-460 p.
- FILIFE (A.). — Inconvénients de la méthode de Burri pour la démonstration de la capsule. *Arquivos Instituto Bacteriologico Câmara Pestana*, IX, fasc. 1, 77-82.
- GENEVRAÏ et BABLET. — Sur un cas de blastomycose méningée à *Saccharomyces tumefaciens* observé au Tonkin. *Arch. Inst. Pasteur Indochine*, avril 1936.
- GOLDBERG (L. H.). — *Torula* infection of the central nervous system. *Jl. Lab. Clin. Med.*, XXVI, 1940, 299-301.
- GUTSTEIN (M.). — Das Ektoplasma der Bakterien.
I Mitteilung. — Ueber eine allgemeine Methode zur Darstellung der Ektoplasmas der Grampositiven Bakterien. *Ztrbl. Bakt.*, 1, XCIII, 1924, 393-402, 1 pl.
II Mitteilung. — Ueber färberische Verschiedenheiten zwischen Grampositiven und Gramnegativen Bakterien. Eine Beitrag zur Theorie der Gramschen Färbung. *Ztrbl. Bakt.*, 1, XCIV, 1925, 145-151, 1 pl.
III und IV Mitteilung. — Morphologie und Aufbau der Ektoplasmas der Grampositiven Bakterien. *Ztrbl. Bakt.*, 1, XCV, 1925, 1-20, 1 pl.
V Mitteilung. — Färberischer Nachweis und chemischer Bau der Ektoplasmas der Gramnegativen Bakterien. *Ztrbl. Bakt.*, 1, C, 1926, 1-19.
- HOWIE (J. W.) et KIRKPATRICK (J.). — Observations on bacterial capsules as demonstrated by a simple method. *Jl. Path. Bact.*, XXXIX, 1934, 165-169.
- KUNSTLER (J.) et BUSQUET. — *Observations sur la structure des Bactériacées et des organismes voisins*, 1898, p. 34, fig. 39.
- LAFAR. — *Technische Mykologie*. — Tome II, Eumyceten Gahrungen, 1906.
- LANGERON (M.). — *Précis de Mycologie*, Paris, Masson et Cie, 1945, 416-420.
— *Précis de Microscopie*, 6^e édition, Paris, Masson et Cie, 1942, 1089-1090.
- LANGERON (M.) et GUERRA (P.). — Valeur et nature des variations et dissociations de colonies chez les champignons levuriformes. *Ann. Paras.*, Paris, XVII, 1939-1940, 456-461.
- LANGRAD-NIELSEN (A.). — Change of capsule in the pneumococci. *Act. Path. Microb. Scand.*, XXI, 1944, 362-369.
- LEGROUX (R.). — L'ectoplasme bactérien, la capsule. *Ann. Inst. Pasteur*, XXXIX, 1925, 382-385.
- LEGROUX (R.) et MAGROU (J.). — Etat organisé des colonies bactériennes. *Ann. Inst. Pasteur*, XXXIV, 1920, 417-431, pl. II à XII.
- MAGER (J.). — Studies on the polysaccharides of capsulated yeasts. *Biochem. J.*, XLI, 1947, 603-609.
- MAGER (J.) et ASCHNER (M.). — Starch reaction as aid in identification of causative agent of european blastomycosis. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, LXII, 1946, 71-72.
- Biological studies on capsulated yeasts. *J. Bact.*, LIII, 1947, 283-295.
- MALLORY (F. B.) et WRIGHT (J. H.). — *Pathological technique*, 8^e éd., 1924.
- MORISON (J. E.). — Capsulation of hemolytic *Streptococci* in relation to colony formation. *J. Path. Bact.*, LI, 1940, 401-412.
- NEGRONI (P.). — La capsula de la *Mycotorula albicans* (Ch. Robin, 1853). *Revista Inst. Bacteriol.*, Buenos-Ayres, VI, 1935, 671-676.
- Poder alérgico del antígeno capsular de *Mycotorula albicans*. *Revista Inst. Bacteriol.*, Buenos-Ayres, VII, 1936, 386-392.

- NEGRONI (P.). — Propiedades antigénicas in vitro de la substancia capsular de *Mycotorula albicans*. *Revista Inst. Bacteriol.*, Buenos-Ayres, VII, 1936, 568-589.
- Etude de la capsule de *Mycotorula albicans* (Ch. Robin 1853). *Ann. Paras.*, XIV, 1936, 511-516.
- La capsule des Levures. *Ann. Paras.*, XIV, 1936, 501-510, pl. XXIII.
- Niño (F.). — Blastomycosis Humana generalizada (estudio clinico, parasitologico, anatomopatologico y experimental). *Mision de estudios de patologia regional argentina, Jujuy (Monographia, n° 3, 1934)*.
- POTRON (M.). — A propos des Blastomycètes dans les tissus (*Recherches morphologiques. Application des caractères de la membrane à la diagnose des Blastomycètes dans les tissus*). Thèse de Doctorat en Médecine, Nancy, 1903, 72-114.
- SOKHEY (S. S.). — The capsule of the plague *Bacillus*. *Jl. Path. Bact.*, LI, 1940, 87-103, 3 pl.
- STAUB (A. M.) et GRABAR (P.). — Recherches immunologiques sur la Bactéridie charbonneuse. Rôle de la capsule dans l'immunisation anticharbonneuse. *C.R. Soc. Biol.*, CXXXVII, 1943, 623.
- VUILLEMIN et LEGRAIN. — Sur un cas de saccharomycose humaine. *Arch. Paras.*, II, 1900.
- WILL. — Die Dauerzellen. *Ztrbl. Bakt.*, 2, 1896.

Institut de parasitologie
de la Faculté de Médecine de Paris (Directeur : Prof. E. Brumpt)
Section de mycologie médicale (chef de service : Dr M. Langeron).

LA «Q» FEVER EN GRÈCE LE LAIT SOURCE DE L'INFECTION POUR L'HOMME ET LES ANIMAUX

Par **Jean P. CAMINOPETROS**

Cette infection, inconnue en Méditerranée avant que les troupes allemandes en Grèce et les troupes alliées en Italie en soient affectées sous forme épidémique, présente aujourd'hui une aire de distribution très large. Elle vient d'être signalée en Roumanie (Combiesco, 1947) et son existence en Asie Mineure est très probable d'après nos recherches personnelles.

Son diagnostic a été réalisé pour la première fois au printemps 1943, lorsque j'ai obtenu l'infection expérimentale du cobaye par inoculation intrapulmonaire de sang et de crachats de malades.

A cette époque, sept souches ont été obtenues en partant du sang de sept malades et cinq autres souches en partant des crachats de cinq autres malades, tous des soldats allemands.

En même temps, quatre autres souches ont été établies sur cobaye avec du sang et des crachats de deux malades grecs, habitants d'Athènes.

Pour des raisons d'économie de cobayes, une seule lignée provenant du sang d'un soldat allemand a été entretenue et elle fut amenée jusqu'au 20^e passage en quinze mois.

Au cours de ces passages, nous avons étudié certaines propriétés du virus, telles que : 1° sa longue conservation *in vitro* à la température ordinaire (allant jusqu'à deux ans d'après nos récentes observations) ; 2° l'infection inapparente du cobaye par instillation nasale ; 3° la filtrabilité du sang ; 4° l'immunité générale très forte du cobaye à la suite de l'infection apparente ou inapparente ; 5° l'infection occulte du cobaye dans le laboratoire ; 6° la présence, sur les frottis de la rate, de microorganismes extracellulaires en amas et intracellulaires sous forme d'inclusions.

Des échantillons de sang de cobaye de la lignée précédente ont été envoyés en Amérique au Dr Dingle au début de 1945, par l'inter-

médiaire du D^r Zarafonitis, de la Commission américaine pour le typhus exanthématique. Le D^r Dingle a obtenu la culture pure du virus dans l'embryon de l'œuf de poule et a pu démontrer, par des réactions sérologiques, qu'il s'agissait de *Rickettsia* revêtant tous les caractères de la *Rickettsia burneti*.

NOUVELLES RECHERCHES ÉPIDÉMIOLOGIQUES ET EXPÉRIMENTALES

La fièvre Q, connue comme maladie sporadique de l'homme, transmise par des tiques en Australie et en Amérique du Nord, était pour la première fois rencontrée sous la forme de bronchopneumonie épidémique et saisonnière.

Les poussées épidémiques, observées pendant trois années consécutives sur les troupes allemandes en Grèce, ont évolué constamment en hiver et au printemps, c'est-à-dire à une époque de l'année où les tiques manquent totalement, et elles cessaient brusquement au début de la saison chaude, lorsque les tiques font leur apparition (Imhäuser).

Les troupes anglaises arrivées en automne 1944 en Grèce ont aussi été affectées dans la suite par la maladie et c'est toujours avec la même incidence saisonnière que les poussées épidémiques se sont succédé chaque année chez elles.

Il est à signaler que les médecins anglais continuaient à poser le diagnostic d'atypical pneumonia, jusqu'au jour où je leur ai donné la preuve expérimentale qu'il s'agissait bien de la Q fever, dans tous les cas hospitalisés comme tels en l'hiver 1946.

Au cours de l'hiver et du printemps 1946-47, le nombre de cas observés parmi les troupes britanniques à Athènes s'est élevé à 40 vis-à-vis de 70 cas de l'année précédente, et cela sans doute à cause de la réduction importante de l'effectif des troupes britanniques en Grèce. Sur des soldats grecs, nous avons pu vérifier 18 cas graves et 12 autres cas sur des civils, habitants d'Athènes. A l'hôpital britannique de Salonique, 13 cas ont été traités.

A Athènes et à Salonique, des cas de la maladie ont fait leur apparition aux premiers jours de janvier ; leur plus grand nombre a été observé en mars et avril et les derniers cas ont été signalés au mois de mai. Cette fois, nous avons pu isoler le virus en partant du sang de 24 malades et des crachats de 12 malades (1) (2). En somme, une

(1) Cinq souches ont été envoyées aux D^{rs} Topping et Huebner du Laboratoire National de la Santé Publique des États-Unis.

(2) La technique de la préparation et de l'inoculation des crachats sera publiée incessamment dans un autre mémoire.

fois de plus, nos recherches prouvaient l'endémicité de l'infection sous forme de bronchopneumonie, ainsi que son incidence saisonnière.

Dans nos recherches, nous avons utilisé pour le diagnostic de l'infection, en plus de la méthode expérimentale, celle de la déviation du complément. Cette dernière méthode nous a permis de constater des cas d'infection inapparente, soit sur des sujets, médecins et infirmiers, soignant des malades, soit sur des sujets de l'entourage même des malades.

De même, grâce à elle, nous avons pu avancer d'une façon sûre nos recherches pour le dépistage de la source de l'infection de l'homme. La transmission interhumaine, bien que possible à cause de la présence du virus dans les crachats, ne saurait pas expliquer tous les caractères épidémiologiques et surtout l'interruption de l'infection en été, ainsi que son endémicité. Par contre, tous ses caractères épidémiologiques suggéraient l'existence en Grèce d'une source particulière de l'infection.

La constatation d'échantillons positifs de sérums de chèvres originaires de Grèce et d'Asie Mineure, par la méthode de déviation du complément, et surtout la reproduction expérimentale de l'infection chez la chèvre et le mouton, sous la forme de bronchopneumonie par instillation nasale du virus, nous ont persuadé du bien-fondé d'une telle hypothèse et nous ont amené à incriminer la chèvre et le mouton comme sources de l'infection (1).

Il est bien connu qu'en Méditerranée (Grèce, Italie, Balkans et Asie Mineure), on fait usage presque exclusivement de lait de chèvre et de mouton et que pour cela ces animaux sont élevés presque dans chaque maison, même dans les villes. Par ce fait, la chèvre et le mouton peuvent être considérés comme des animaux particuliers aux régions où la fièvre Q a été rencontrée endémique sous la forme de bronchopneumonie.

Il faut mentionner que la majorité des cas observés chez des soldats anglais provenaient d'unités installées à la périphérie d'Athènes et que des troupeaux de chèvres et de moutons laitiers étaient gardés dans les champs voisins. La même observation est rapportée dans la publication concernant l'enquête épidémiologique faite en Italie dans le champ d'aviation de Grottaglie, où des cas de bronchopneumonie sous forme épidémique ont été observés.

(1) Le Dr Huebner, qui avait accepté de faire pour nous les séro-réactions de déviation du complément, était mis au courant de nos recherches sur la chèvre et le mouton dès leur début.

Des expériences ultérieures nous ont révélé un caractère particulier de l'infection de ces animaux qui nous apportait la preuve définitive des rapports entre l'infection humaine et animale.

Par contre, la séroréaction s'est montrée sans aucune valeur pour le diagnostic de l'infection de ces animaux, du fait qu'elle a été trouvée négative dans tous les cas, sauf une seule exception, d'infection expérimentale et naturelle de la chèvre et du mouton.

I. — Sensibilité des chèvres et des moutons par inoculation du virus de la Q fever

Les animaux utilisés pour ces expériences provenaient de divers quartiers isolés d'Athènes et d'autres régions de la Grèce. Quelques-uns venaient d'Asie Mineure, importés de là-bas pour les abattoirs.

1^{re} expérience (22 avril 1947)

L'expérience a été disposée comme suit :

1 chevreau, 1 agneau, injection dans le poumon de sang infecté humain ;

1 chevreau, 1 agneau, instillation nasale de sang infecté humain, faite après anesthésie à l'éther ;

4 jeunes chiens, 2 cochons, inoculation dans le poumon de sang infecté ;

1 cochon, 2 jeunes chiens, instillation de sang infecté dans les cavités nasales.

Pour chaque série d'animaux, nous avons utilisé comme témoins 2 cobayes inoculés dans le poumon et dans le péritoine, ou sous la peau.

Tous les chevreaux et les agneaux, après une incubation de 6 à 10 jours, ont présenté de la fièvre élevée, d'une durée de 7 à 12 jours.

Parmi ceux-là, tous ceux qui étaient inoculés dans le poumon ou infectés par instillation nasale, ont présenté des symptômes de bronchopneumonie.

Le sang des chevreaux et des agneaux malades, injecté à des cobayes neufs, s'est montré infectieux pendant toute la durée de la fièvre.

2^e expérience (4 mai 1947)

Nous avons utilisé cinq chevreaux âgés d'environ 40 jours, nés et élevés dans la cour de la maison du docteur Minas, au Vieux-Phalère, près de la côte. Les trois premiers ont été inoculés avec du sang de cobaye sous la peau, les deux autres sous la peau aussi, avec du sang de deux chevreaux de l'expérience précédente.

Tous les chevreaux, après 8 à 10 jours, ont présenté une infection grave. La fièvre a atteint 42° et était accompagnée de forts frissons. Au point d'inoculation, il s'est produit une inflammation étendue dont l'évolution allait de pair avec celle de la fièvre, laquelle tombait toujours en lysis.

La ponction du cœur pour prélèvement de sang, pratiquée en pleine évolution de la maladie, a décelé du liquide péricardique en abondance (20 à 30 cm³). Le sang de tous les chevreaux s'est montré infectieux pour le cobaye pendant toute la durée de la fièvre. Sur des préparations faites avec du tissu de grattage de la lésion cutanée, nous avons trouvé des *Rickettsia* en grand nombre.

Un cheveau a succombé deux jours après la chute de la fièvre. A l'autopsie, la rate a été trouvée très augmentée de volume, avec des adhérences solides. Le péricarde, épaissi et piqué de petites granulations, contenait beaucoup de liquide. On a trouvé sur des frottis de la rate des *Rickettsia* en amas intra et extracellulaires.

Quelque temps après l'inoculation des chevreaux, nous avons inoculé, par injection sous-cutanée, deux chèvres en lactation, mères de ces chevreaux. Chez toutes les deux, l'injection fut suivie par une grave maladie, à évolution absolument pareille à celle de la maladie des chevreaux, et leur sang s'est montré infectieux pour le cobaye.

3^e expérience (9 juin 1947)

4 jeunes moutons ont été inoculés sous la peau avec du sang de 2 chevreaux de l'expérience précédente ;

2 chevaux, 2 mulets, sous la conjonctive de la paupière supérieure ;

6 jeunes chiens, dont 4 par voie sous-cutanée et 2 sous la paupière ;

8 jeunes chats, dont 4 par voie sous-cutanée et 4 sous la conjonctive.

Les moutons eurent une infection grave après une incubation de 6 à 10 jours ; au point de l'injection, inflammation étendue.

Aux chevaux et mulets, l'injection provoqua une inflammation très intense de la conjonctive, accompagnée de fièvre élevée pendant 6 à 8 jours.

Les chiens ont présenté une réaction fébrile passagère, mais sans inflammation locale, tandis que les chats n'ont présenté ni inflammation locale, ni réaction fébrile.

Le sang des moutons s'est montré infectieux pour le cobaye au début et à la fin de la fièvre. De même le sang des chevaux et mulets. Au contraire, l'injection du sang des chiens et chats au cobaye ne lui a pas transmis la maladie. La séro-réaction, pourtant, s'est montrée positive pour le chien et le chat, tandis que pour les moutons, chevaux et mulets, elle fut négative.

II. — Infection expérimentale de la chèvre et du mouton par instillation nasale du virus

Passage du virus dans le lait des chèvres et absence de virulence de leurs urines

4^e expérience (16 juillet 1947)

Animaux ayant servi pour cette expérience :

6 moutons, 1 bélier, 2 agneaux, 3 chevreaux, 3 chèvres (une en lactation, provenant d'Athènes, G ; une autre en lactation, provenant aussi d'Athènes, D ; une stérile, à peine importée de Turquie, T), 2 boucs, originaires de Grèce, l'un, élevé à l'Institut, était en contact avec des cobayes infectés, et la séro-réaction pratiquée chez lui avant l'inoculation fut trouvée positive.

Deux des chevreaux et les deux agneaux avaient été inoculés dans la première expérience et avaient présenté une infection grave, qui avait provoqué un grand amaigrissement.

Dans cette expérience, nous avons essayé d'examiner plus à fond l'infection par la voie respiratoire. Tous ces animaux ont reçu par instillation nasale du sang de cobaye infecté, sans anesthésie préalable à l'éther.

Chez quelques-uns, nous avons pratiqué en même temps l'injection de 2 à 3 cm³ de sang infecté sous la conjonctive de la paupière supérieure.

A part les deux chevreaux et les deux agneaux qui étaient inoculés pour la seconde fois et du bouc qui vivait dans l'Institut, tous les autres animaux, après une incubation de 6 à 9 jours, ont présenté une maladie grave, accompagnée de toux et de dyspnée. A l'auscultation, on percevait des râles disséminés et à la radiographie de deux chèvres, nous avons constaté des foyers congestifs des poumons.

Chez les animaux auxquels il avait été pratiqué en plus l'injection sous-conjonctivale, nous avons observé une ophtalmie grave de longue durée, qui avait évolué dans un cas jusqu'au kératocône, mais qui a régressé sans laisser de séquelles appréciables de la cornée.

Du bélier, qui a fait une très grave maladie (1), l'infection fut transmise à une chèvre ED en lactation, par instillation de sang dans les narines. En même temps, nous avons injecté du sang de la

(1) La fièvre a duré élevée 10 jours, l'impotence fut grande, et deux mois après la maladie l'animal a présenté une paralysie des membres postérieurs à laquelle il a succombé neuf mois après.

chèvre G à une autre jeune chèvre A en lactation, provenant d'un quartier du Vieux-Phalère. Cette dernière fut trouvée immunisée. La première, au contraire, a eu une bronchopneumonie très grave et une ophthalmie très intense. Nous devons ajouter que dans tous les cas, malgré les phénomènes intenses de la bronchopneumonie, la toux était toujours sèche.

Pourtant, chez quelques chèvres et moutons, nous avons observé un catarrhe nasal, plus abondant chez les moutons. Chez la chèvre ED, le catarrhe nasal fut assez abondant et l'inoculation de l'écoulement nasal au cobaye, pratiquée à deux reprises, une fois vers le milieu de la maladie et l'autre quelques jours après la chute de la fièvre, fut positive la première fois. Sur des frottis de la conjonctive et de la cornée des animaux ayant eu l'ophthalmie spéciale, on avait décelé des *Rickettsia* intra- et extracellulaires en grand nombre.

Enfin, l'inoculation au cobaye des urines de ces animaux, pratiquée à plusieurs reprises à des stades différents de la maladie, comme aussi après sa fin, fut toujours négative (1). Par contre, le lait des chèvres s'est montré infectieux très tôt au cours de la maladie et est resté depuis infectieux pendant toute la durée de la lactation, comme il est pleinement démontré par les expériences suivantes.

III. — Apparition et persistance du virus dans le lait des chèvres après l'infection expérimentale

5 expériences

Au cours de l'expérience précédente, la lactation avait cessé chez les brebis utilisées et persistait seulement chez quelques chèvres.

Nous avons eu de cette façon la possibilité d'injecter au cobaye le lait de la chèvre G, chez laquelle la maladie continuait (8^e jour de la fièvre, le 30 juillet 1947). L'injection fut pratiquée par voie sous-cutanée et intrapéritonéale à la dose de 2 cc. pour chaque voie. Les cobayes inoculés ont présenté une maladie typique après une incubation de quelques jours.

L'expérience fut répétée avec du lait de la chèvre précédente (G), le 12 août 1947, c'est-à-dire deux jours après la chute de la fièvre et, en même temps, avec du lait de la chèvre ED, chez qui la fièvre avait

(1) La prise de la température au rectum provoque une émission réflexe d'urine au moment du retrait du thermomètre, ce qui rend la prise des urines très facile.

débuté trois jours auparavant, et le résultat de l'inoculation fut positif dans les deux cas.

A une troisième expérience, pratiquée le 19 août 1947, soit neuf jours après la fin de la fièvre de la première chèvre et au dixième jour de la fièvre de la deuxième chèvre, le résultat fut encore positif.

A une quatrième expérience, le 29 août 1947, nous avons examiné le lait de trois chèvres, soit de la G, de la ED, et d'une autre D, inoculée en même temps que la G, le 16 juillet 1947. Le résultat fut positif pour toutes les trois.

A une cinquième expérience, le 18 septembre 1947, et à une *sixième*, le 6 octobre 1947, qui furent exécutées avec du lait des trois chèvres, ED, G, et D, le résultat fut de nouveau positif.

Par ces expériences, il était définitivement établi que l'apparition du virus dans le lait se faisait dès les premiers jours et qu'il persistait au moins pendant trois mois après la fin de la maladie.

IV. — Infection naturelle de la chèvre sous la forme de bronchopneumonie

Les expériences précédentes acquièrent une plus grande importance par l'observation suivante d'une chèvre en lactation, qui avait présenté spontanément une bronchopneumonie grave, après être mise en contact pendant quelques jours dans l'Institut avec les chèvres ci-dessus. Le lait de cette chèvre s'est montré aussi infectieux vers la fin de la maladie et est resté tel jusqu'à la fin de la lactation.

Des échantillons de lait infectieux, conservés à la glacière pendant au moins trois mois, se sont montrés constamment virulents, tandis que le virus disparaissait rapidement après la fermentation acide du lait.

V. — Dépistage du virus dans le lait de chèvres de troupeaux de la région d'Athènes

Dans les quartiers de la périphérie d'Athènes sont élevés plusieurs troupeaux de chèvres laitières (race de Malte) comprenant vingt à cinquante animaux. Le 22 août 1947, nous avons visité un troupeau au Delta de Phalère, dans le voisinage de plusieurs unités de troupes britanniques, et avons prélevé des échantillons de lait de seize chèvres de Malte. Ces échantillons furent injectés à dix cobayes. Quatre échantillons furent injectés séparément à quatre

cobayes et les autres, après mélange des échantillons par groupes de deux ensemble, furent inoculés à raison de 2 cm³ du mélange dans le péritoine et 2 cm³ par voie sous-cutanée pour chaque cobaye (1).

Une maladie typique fut transmise après incubation de 15 à 20 jours à quatre cobayes. De ces cobayes, deux ont été infectés séparément avec le lait de deux chèvres et chacun des deux autres par mélange du lait de deux chèvres. C'est-à-dire que le virus existait dans le lait d'au moins quatre chèvres.

Le 26 août 1947, nous avons prélevé d'autres échantillons de sang d'un autre troupeau de chèvres, lequel contenait aussi des brebis dont la lactation avait cessé par la gestation (Eden, Vieux-Phalère). Huit échantillons de sang furent prélevés de huit chèvres et ont été inoculés par mélange de deux à quatre cobayes. Un cobaye a fait une maladie typique après incubation de neuf jours.

Plus tard, nous avons répété, le 14 janvier 1948, dans le même troupeau, le contrôle du lait des chèvres et des brebis, qui venaient de mettre bas. Sur six chèvres, dont nous avons injecté le lait à des cobayes, trois se sont montrées porteuses du virus. Sur une brebis qui venait de mettre bas et qui, une semaine auparavant, avait présenté de la bronchopneumonie grave, le virus a été trouvé dans son lait. Quelque temps après, le 2 février 1948, nous avons procédé dans le même troupeau à l'examen du lait de deux autres brebis, qui avaient aussi présenté de la bronchopneumonie grave, et, de toutes les deux, le lait s'est montré infectant pour le cobaye. Il est à remarquer que ces trois brebis, qui avaient été malades de bronchopneumonie et dont le lait s'est montré virulent, venaient d'être importées de Chios.

Nous devons encore ajouter que nous n'avons jamais observé de lésions mammaires apparentes chez les chèvres laitières qui ont été atteintes de la maladie expérimentale et dont le lait contenait le virus pendant une longue période. Nous avons pourtant observé, sur les brebis du dernier troupeau (Eden Phalère), une inflammation circonscrite et éphémère des mamelles, mais nous n'avons pu déceler dans le lait la présence de microorganismes autres que les *Rickettsia*, soit par la culture du lait ou par son inoculation au cobaye.

Nous devons aussi relater le résultat de l'autopsie faite sur une autre brebis du même troupeau, morte de bronchopneumonie pendant sa gestation. Aux poumons des foyers congestifs de grande

(1) Cette expérience fut pratiquée en collaboration avec le Docteur-Vétérinaire Emman. Matheakis, directeur du laboratoire microbiologique de l'hôpital vétérinaire de l'Armée.

étendue, beaucoup d'épanchement pleural. Rate très augmentée de volume. Dans l'utérus, deux embryons au dernier mois de la grossesse. Nous avons prélevé des lambeaux de viscères de ces embryons pour préparer une suspension qui fut injectée à des cobayes. Cette inoculation a été négative.

VI. — Sort du virus après la gestation des animaux préalablement infectés

Dans un autre cas, celui de la chèvre ED, qui, après sa maladie expérimentale, portait le virus dans son lait et qui plus tard avait donné naissance à trois chevreaux, nous avons eu l'occasion de procéder à l'autopsie d'un chevreau mort de suite à sa naissance et de rechercher le virus dans ses viscères. Le résultat fut aussi négatif.

D'autre part, huit jours après, nous avons observé sur un autre chevreau de la même chèvre, le seul ayant survécu, l'apparition de fièvre élevée. Cette fièvre a duré douze jours, sans autre symptôme apparent. L'inoculation au cobaye de son sang, prélevé à deux reprises pendant la période fébrile, a montré qu'il s'agissait de fièvre Q. D'ailleurs le lait de cette chèvre, inoculé au cobaye, a produit l'infection typique.

Nous avons observé le même fait sur cinq autres chevreaux nouveau-nés des chèvres G et D, dont le lait contenait le virus jusqu'à la gestation. Tous les cinq chevreaux ont présenté, huit à dix jours après leur naissance, une fièvre qui a évolué de la même manière que celle du chevreau précédent. Cette observation fut répétée sur tous les nouveau-nés de chèvres et de brebis, du troupeau d'Eden Phalère, trouvés naturellement infectés, 9 chevreaux et 5 agneaux.

Les observations concernant l'infection des nouveau-nés que nous venons d'énumérer constituent des exemples d'infection naturelle par le lait, très démonstratifs et qui font ressortir le rôle du lait comme source d'infection. Elles démontrent en plus qu'au cours de la gestation, le virus persiste dans la glande mammaire inerte, tandis que les embryons restent indemnes d'infection. Enfin, il est à remarquer que la période de lactation et son interruption pendant la gestation se superposent avec l'apparition et la cessation de l'épidémie.

L'aire de distribution géographique de la maladie (Grèce, Italie, Balkans, Asie Mineure) comprend les régions d'élevage des chèvres et des moutons comme animaux laitiers.

Nous examinerons plus tard le rôle des tiques dans la transmis-

sion de l'infection chez la chèvre et le mouton à la campagne. Il est à remarquer qu'on ne trouve d'habitude pas de tiques sur les chèvres et les moutons domestiques des quartiers suburbains d'Athènes et des environs (1).

RÉSUMÉ

Les faits nouveaux que nous avons constatés au cours de nos recherches épidémiologiques et expérimentales sont les suivants :

1. — La Q fever, manifestée comme maladie de l'appareil respiratoire, est endémique en Grèce et son apparition épidémique est strictement saisonnière en hiver et au printemps.

2. — La présence du virus dans le sang et les crachats pendant l'évolution de la maladie est prouvée par l'infection expérimentale du cobaye.

3. — Des cas d'infection inapparente de l'homme sont décelés par la réaction de la déviation du complément.

4. — En plus de l'homme, la chèvre et le mouton sont très réceptifs à l'infection.

5. — L'infection animale naturelle se manifeste, ainsi que chez l'homme, sous la forme de bronchopneumonie. Elle peut être reproduite expérimentalement par instillation nasale du virus.

6. — L'infection animale possède un caractère particulier de grande importance épidémiologique, celui de la *présence du virus dans le lait* des animaux pendant toute la période de la lactation.

7. — Le virus réapparaît dans le lait après la fin de la gestation et les nouveau-nés, indemnes d'infection à leur naissance, sont aussitôt infectés par le lait. Ainsi, le lait, par ce fait, se révèle la source de l'infection animale.

8. — Il doit être aussi la source de l'infection humaine.

La transmission interhumaine, réalisable par les crachats, ne paraît pas être le mode de transmission principal, à cause de l'interruption de l'épidémie en été. Celle-ci correspond par contre à la cessation de la lactation des chèvres et des moutons, à cause de leur gestation en été.

(1) Dans la plus grande partie de ces expériences, nous avons utilisé des animaux, reçus d'Alexandrie ou de France, que nous avons eu soin de répartir en petits lots dans différents endroits, afin de les garder à l'abri de toute infection occulte par la Q fever.

La manifestation de la maladie sous la forme de bronchopneumonie doit être attribuée à la grande sensibilité de l'appareil respiratoire de l'homme et de ces animaux au virus, ainsi qu'à l'apport direct du virus par le lait.

BIBLIOGRAPHIE

- BRUMPT (E.). — Une importante endémie récemment découverte dans le bassin méditerranéen : la « Q » fever, rickettsiose déterminée par *Rickettsia burneti*. *Presse Médicale*, 1^{er} et 15 février 1947, p. 81 et 112.
- COMBIESCO. — *C.R. Soc. de Biologie*, 1947.
- IMHÄUSER (K.). — Ueber das Auftreten von Bronchopneumonien in Südostraum. *Zeitschrift für klinische Medizin*, 1943, 486-495.
- « Q » FEVER. — Introduction to a series of papers dealing with Q fever. *American Journal of Hygiene*, XLIV, 1946, p. 1.
- ZARAFONITIS (C. I. D.). — Virus of « Balkan grippe ». *Memorandum to the Director, U.S.A. typhus Commission*, 15 février 1945, p. 5.
- Identification and characteristics of the Balkan grippe strain of *Rickettsia burneti*. *Commission on acute respiratory diseases Fort Bragg North Carolina*, p. 110.
- Q FEVER in the Mediterranean Area. *Report of its occurrence in Allied troops*, p. 6.

Institut Pasteur hellénique, Athènes. Service de médecine expérimentale
(chef du service : D^r J. P. Caminopetros)

NOTES ET INFORMATIONS

Observations complémentaires sur les phlébotomes tunisiens. —

Je dois à l'amabilité renouvelée du Dr M. Sicart un lot intéressant de phlébotomes capturés depuis la parution de mon précédent travail (ces *Annales*, XXII, 1947) sur la fréquence de ces insectes dans deux localités tunisiennes. L'étude de ce matériel m'a confirmé la très grande abondance de *P. minutus parroti* Adl. à Ain-Draham ; sur 17 individus de cette provenance, 15 (88,21 0/0) sont des mâles de ce némalocère ; les deux autres sont un mâle de *P. perniciosus* Newst. et une femelle appartenant au groupe de cette espèce ; ces proportions correspondent bien avec celles constatées en 1945. Les 8 exemplaires reçus de Tebourba sont tous des *P. papatasi* (Scop.) (4 ♂, 4 ♀) ; alors qu'en 1945 dominait *P. perniciosus* Newst. (54,8 0/0), puis *P. perfiliewi* Parrot (35,55 0/0), il y a certainement eu, au moins pendant une partie de l'été 1947, une prédominance de *P. papatasi*. Par ailleurs, notre confrère tunisien me signale que, dans la région de Tebourba, il a constaté neuf cas de kala-azar, en plus des deux signalés dans la chronique de Ch. Anderson (1938). Ce fait correspond bien avec la fréquence dans cette localité de *P. perniciosus*, qui est le vecteur classique de cette leishmaniose. Mais, comme me l'a fait remarquer M. L. Parrot, la présence à Tebourba de *P. longicuspis* Nitz. a pu aussi intervenir. Avec A. Donatien et E. Plantureux, l'éminent spécialiste (*Arch. I. P. Algérie*, XIX, 1941) a en effet constaté, dans la banlieue d'Alger, l'infestation leishmanienne naturelle de cette espèce dans la même proportion que chez la précédente.

Je profite de cette occasion pour réparer une erreur matérielle qui s'est glissée dans mon mémoire de 1947 ; à la place des indices α/β inexacts de *P. minutus parroti* d'Aïn-Draham (p. 72, lignes 2-5), il convient de lire que chez la femelle à fourche alaire antérieure très courte, ces rapports sont à droite de 0,29 et à gauche de 0,165 ; chez le plus grand nombre de femelles, ce quotient oscille entre 0,40 et 0,80, tandis que chez le mâle le chiffre extrême est 0,33.

E. ROMAN.

Notulæ Mycologicæ (1). — II. — Production facile des *ascospores des levures* en cultures sur lames. — On sait que le principe de la culture des levures, en vue de la production des ascospores, consiste à les affamer. Pour cela, on les sème sur un milieu pauvre (formule Gorodkova) ou

(1) Voir ces *Annales*, XVI, 1938, 374.

bien on les dépose, après une période de croissance sur milieu riche, sur de petits blocs de plâtre, maintenus humides en milieu stérile. Il a été proposé aussi de nombreuses formules de milieux spéciaux. Le hasard nous a enseigné un procédé beaucoup plus simple : il suffit de les cultiver sur un milieu gélosé pauvre (peptoné à 1 p. 100 et glycosé à 1 ou 2 p. 100) étalé sur lames par la méthode de Rivalier et Seydel. La très faible épaisseur de ce milieu fait qu'il est promptement épuisé, aussi les ascospores apparaissent-elles rapidement et en abondance. Il est alors facile de les colorer, au moyen de colorants acides, par une des méthodes que nous avons récemment proposées (1).

M. LANGERON et Ph.-J. LUTERAAN.

III. — *Sporulation des bactéries en cultures sur lames.* — Nous avons appliqué aussi notre méthode de culture sur lames à la production des spores des bactéries sporulées. Les quelques essais que nous avons tentés nous ont donné d'excellents résultats, par exemple avec *Bacillus subtilis* Cohn 1872 et *Bacillus anthracis* Cohn 1872.

M. LANGERON et Ph.-J. LUTERAAN.

IV. — *Emploi du bleu trypan phéniqué acétique.* — Nous avons recommandé (2) l'emploi du *bleu trypan* comme colorant de contraste après l'érythrosine, l'éosine et l'orseilline BB. Nous avons reconnu à l'usage que la préparation de ce bleu par la méthode de Maneval donne quelquefois des mécomptes. Il est préférable de préparer ce bleu en solution phéniquée à 5 p. 100, par la méthode générale (1) de préparation des colorants phéniqués (broyage préalable au mortier du colorant et du phénol avec de l'alcool à 95°). On ajoute ensuite 5 p. 100 d'acide acétique. Pour réussir la coloration, il est extrêmement important de terminer par une différenciation à l'alcool à 70° légèrement teinté par quelques gouttes d'une solution aqueuse concentrée d'orange G (alcool-orange).

M. LANGERON et Ph.-J. LUTERAAN.

V. — *Coloration des capsules des levures.* — Il y a peu de méthodes satisfaisantes et suffisamment sûres pour la coloration des capsules de levures. Nous avons reconnu que la méthode de Langeron et Luteraan, à l'érythrosine-bleu trypan (2), avec différenciation par l'alcool-orange, permet d'obtenir facilement cette coloration. Colorer pendant deux minutes par l'érythrosine à 1 p. 100 dans l'eau phéniquée à 5 p. 100 (formule de Winogradsky). Laver rapidement à l'eau, différencier par l'alcool-orange en 30 secondes et laver à l'alcool. Colorer ensuite en 2 à 3 minutes par le bleu trypan phéniqué acétique, laver à l'eau, puis différencier de nouveau par l'alcool-orange. Les cellules des levures sont bleu foncé, la capsule est nettement teintée de bleuté.

J. MÉRY.

(1) Ces *Annales*, XXII, 1947, 254-275.

(2) Ces *Annales*, XXII, 1947, 272-273.

RÉPERTOIRE

D'ESPÈCES ET DE GENRES NOUVEAUX

Sawayella Marcus E. *Schizocystidæ*. Espèce type : *S. polyzoorum* Marcus E. Brésil. *Arq. Inst. Biol. São-Paulo*, X, 1939, p. 259.

Sawayella polyzoorum Marcus E. *Schizocystidæ*. Tube digestif de Bryozoaires. *Arq. Inst. Biol. São-Paulo*, X, 1939, p. 259.

Gregarina acrydiinarum Semans F.-M. *Gregarinidæ*. *Acrydium* et *Paraletyx* (Orthopt.), Etats-Unis. *Ohio J. Sci.*, XLI, 1941, p. 457.

Gregarina centophili Semans F.-M. *Gregarinidæ*. *Centophilus* (Orthopt.), Etats-Unis. *Ohio J. Sci.*, XLI, 1941, p. 457.

Gregarina hadenœci Semans F.-M. *Gregarinidæ*. *Hadenœcus* (Orthopt.), Etats-Unis. *Ohio J. Sci.*, XLI, 1941, p. 457.

Gregarina indianensis Semans F.-M. *Gregarinidæ*. *Melanoplus*, *Chorthippus* (Orthopt.), Etats-Unis. *Ohio J. Sci.*, XLI, 1941, p. 457.

Gregarina ohioensis Semans F.-M. *Gregarinidæ*. *Parcoblatta* sp. Etats-Unis. *Ohio J. Sci.*, XLI, 1941, p. 457.

Gregarina parcoblattæ Semans F.-M. *Gregarinidæ*. *Parcoblatta* sp. Etats-Unis. *Ohio J. Sci.*, XLI, 1941, p. 457.

Gregarina proteocephala Semans F.-M. *Gregarinidæ*. *Centophilus* (Orthopt.), Etats-Unis. *Ohio J. Sci.*, XLI, 1941, p. 457.

Gregarina thomasi Semans F.-M. *Gregarinidæ*. *Parcoblatta* sp. Etats-Unis. *Ohio J. Sci.*, XLI, 1941, p. 457.

Actinocephalus elongatus. Semans F.-M. *Actinocephalidæ*. *Chostophaga*, *Arphia*, *Schistocerca*, *Melanoplus*, *Dicromorpha* (Orthopt.). Etats-Unis. *Ohio J. Sci.*, XLI, 1941, p. 457.

Pileocephalus tachycines Semans F.-M. *Actinocephalidæ*. *Tachycines* (Orthopt.). Etats-Unis. *Ohio J. Sci.*, XLI, 1941, p. 457.

Stylocephalus bahli Misra P.-L. *Stylocephalidæ*. *Gonocephalum helopioides* (Coléopt.). Indes. *Rec. Ind. Mus., Calcutta*, XLIII, 1941, p. 43.

Stylocephalus indicus Misra P.-L. *Stylocephalidæ*. *Opatrides vicinis* (Coléopt.). Indes. *Rec. Ind. Mus., Calcutta*, XLIV, 1942, p. 339.

Metamera reynoldsi Jones A.-W. *Dactylophoridæ*. *Glossosiphonia complanata* (Hirud). Amér. du Nord. *Trans. Amer. Micr. Soc.*, LXII, 1943, p. 254.

Grebneckiella pixellæ Misra P.-L. *Dactylophoridæ*. *Scolopendra morsitans* (Myriap.). Indes. *Rec. Ind. Mus., Calcutta*, XLIV, 1942, p. 323.

Nematopsis ostreanum Prytherch. *Porosporidæ*. Crabes et huitres. Etats-Unis. Jour. Morph., Philadelphie, LXVI, 1940, p. 39.

Atelina schellacki Ray H.-N. et Das Gupta M. *Adeleidæ*. Intestin. *Cor-mocephalus dentipes*. Inde. *Parasitology*, XXXII, 1940, p. 392.

Hæmogregarina melissclensis Georgevitch J. *Hæmogregarinidæ*. Sang. *Lacerta serpa* (Rept.). Ile Brusnik (Adriatique). Bull. Acad. Sci., Belgrade, VI, 1940, (B), p. 9.

Hæmogregarina thamnophium Sokoloff D. et Mooser O. *Hæmogregarinidæ*. Sang. *Tupinambis teguixin*. *Tejidæ* (Rept.). Etats-Unis, Journ. of parasit., XXVIII, 1942, p. 147.

Hæmogregarina myoxocephali Fantham H.-B., Porter A. et Richardson L.-R. *Hæmogregarinidæ*. *Myoxocephalus octodecimsipinosus*. *Callionymidæ* (Poiss.), Canada. *Parasitology*, XXXIV, 1942, p. 199.

Hæmogregarina urophysis Fantham H.-B., Porter A. et Richardson L.-R. *Hæmogregarinidæ*. *Urophysis tenuis* (Poiss.), Canada. *Parasitology*, XXXIV, 1942, p. 199.

Hæmogregarina lerme sis Martinez L. *Hæmogregarinidæ*. Sang. *Thamnophis marostemma* (Ophidien). Mexique. Ann. Inst. Biol. Mexico, XII, 1941, p. 174.

Myriospora gopalai Ganapati R.-N. *Aggregatidæ*. Intestin. *Cirritulus filiformis* (Annél.). Côtes de l'Inde. Proc. Ind. Sci. Congr., XXVII, p. 149.

Doriviella hareni M. Chakravarty et A.-B. Kar. *Eimeridæ*. Intestin. *Munia malacca* (Ois.). Indes. Proc. Indian. Acad. Sci., XX (B), 3, p. 102.

Lankesterella canadensis H.-B. Fantham, A. Porter et L.-R. Richardson. *Eimeridæ*. Intestin. *Rana calesbiana* (Batr.) Canada. *Parasitology*, XXXIV, 1942, p. 199.

Eimeria americana J.-C.-M. Carvalho. *Eimeridæ*. Intestin. *Lepus townsendi campanius*. « White tailed Jack Rabbit » (Mamm.). Etats-Unis. Iowa State Coll. J. Sci., XVIII, 1943, p. 103.

Eimeria antilocaprae H. Huizinga. *Eimeridæ*. *Antilocapra americana* (Mamm.). Journ. of. Paras., XXVIII, 1942, p. 167.

Eimeria ahsata R.-F. Honess. *Eimeridæ*. *Ovis canadensis canadensis* « Rocky Mountain Bighorn » (Mamm.). Etats-Unis. Bull. Wyoming agric. Exp. Station, n° 249, 1942.

Eimeria arkhari Yakimov et Machulskij. *Eimeridæ*. *Ovis polii* (Mamm.). Russie. Parasit. Sbornik, VIII, 1940, p. 240.

Eimeria brevoortiana A.-B. Hardecastle. *Eimeridæ*. Intestin. *Breviostia tyrannus* (Poiss.). Amér. du Nord. Journ. of Paras., XXX, 1944, p. 60.

Eimeria brunetti P.-P. Levine. *Eimeridæ*. Intestin. *Gallus domesticus* (Ois.). Etats-Unis. Cornell. Vet., XXXII, 1942, p. 430.

Eimeria chrysemidis O.-J. Deeds et T.-L. John. *Eimeridæ*. *Chrysemis marginata* (Rept.). Etats-Unis. Proc. Iowa Acad. Sci., XLVI, 1940, p. 453.

Eimeria craudallis R.-F. Honess. *Eimeridæ*. *Ovis canadensis canadensis* (Mamm.). Bull. Wyoming agric. Exp. Station, n° 249, 1942.

Eimeria himalayanum H.-N. Ray et P.-L. Misra. *Eimeridæ*. Intestin. *Bufo* sp. (Batr.). Indes. *Proc. Indian. Sc. Congr.*, XXVIII, p. 169.

Eimeria innominata A.-B. Kar. *Eimeridæ*. *Lissemys punctata* (Rept.). Indes. *Ind. Vet. Journ.*, V, XX, n. 232.

Eimeria irregularis A.-B. Kar. *Eimeridæ*. *Lissemys punctata* (Rept.). Indes. *Ind. Vet. Journ.*, XX (5), p. 232-234.

Eimeria langeroni V. Yakimov et S. Mačulskij. *Eimeridæ*. Intestin. *Phasianus gordius* et *Phasianus colchicus* (Ois.). Russie. *Paras. Sbornik*, VIII, 1940, p. 242.

Eimeria mihetti H.-N. Ray, K. Raghavachari et S.-N. Sapre. *Eimeridæ*. Intestin. *Mabuia* sp. (Rept.). Indes. *Proc. Indian Sci. Congr.*, XXVIII (3), p. 170.

Eimeria minima J.-C.-M. Carvalho. *Eimeridæ*. Intestin. *Sylvilagus floridanus* (Mamm.). Etats-Unis. *Iowa State Coll. J. Sci.*, XVIII, 1943, p. 103.

Eimeria neoleporis J.-C.-M. Carvalho. *Eimeridæ*. Intestin. *Sylvilagus floridanus* (Mamm.). Etats-Unis. *Iowa State Coll. J. Sci.*, XVI, 1942, p. 409.

Eimeria notopteri M. Chakravarty et A.-B. Kar. *Eimeridæ*. Intestin. *Notopterus notopterus* (Pallas) (Poiss.). Indes. *Current. Sci. Bangalore*, XIII, 1944, p. 51.

Eimeria wyomingensis H. Huizinga et R.-N. Winger. *Eimeridæ*. Bestiaux. *Trans. Amer. Micr. Society*, LXI, 1942, p. 131.

Isospora brum t G. Lavier. *Eimeridæ*. *Bufo viridis* (Batr.). Syrie. *Ann. de Paras.*, XVIII, 1941, p. 1.

Isospora ginginiana M. Chakravarty et A.-B. Kar. *Eimeridæ*. Oiseaux. Indes. *Proc. Ind. Acad. Sci.*, XX, 1944 (B.), p. 102.

Isospora gursae V. Yakimov et S. Mačulskij. *Eimeridæ*. *Vipera lebetina* (Rept.). Russie. *Paras. Sbornik*, VIII, 1940, p. 246.

Isospora fonsecai V. Yakimov et S. Mačulskij. *Eimeridæ*. *Ursus pamirensæ* (Mamm.). Russie. *Paras. Sbornik*, VIII, 1940, p. 238.

Isospora monedulae V. Yakimov et S. Mačulskij. *Eimeridæ*. *Colocys monedula collaris* (Ois.). Russie. *Paras. Sbornik*, VIII, 1940, p. 242.

Isospora muniae M. Chakravarty et A.-B. Kar. *Eimeridæ*. Oiseaux. Inde. *Proc. Ind. Acad. Sci.*, XX (B.), 1944, p. 102.

Isospora temenuchii M. Chakravarty et A.-B. Kar. *Eimeridæ*. Oiseaux. Inde. *Proc. Ind. Acad. Sci.*, XX (B.), 1944, p. 102.

Isospora strigis V. Yakimov et S. Mačulskij. *Eimeridæ*. *Asio flammeus leucopsis* (Ois.). Russie. *Paras. Sbornik*, VIII, 1940, p. 245.

Isospora struthionis V. Yakimov. *Eimeridæ*. *Struthio* sp. Afrique. *Ann. Soc. Belge Med. Trop.*, XX, 1940, p. 137.

Henneguya otolithi P.-M. Ganapati. *Myxobolidæ*. *Otolithus* sp. *Sciaenidæ* (Poiss.). Inde. *Proc. Ind. Acad. Sci.*, XIII (B.), 1941, p. 135-150.

Henneguya rupestris J.-A. Herrick. *Myxobolidæ*. *Amphloplites rupestris*. *Centrarchidæ* (Poiss.). Lac Erié. *Trans. Amer. Micr. Soc.*, LX, 1941, p. 163.

Myxidium gasterostei E.-R. Noble. *Myxidiidæ*. *Gasterosteus aculeatus* (Poiss.). J. Morph. Philadelphia, LXXVIII, 1943, p. 281-292.

Myxidium heteropneusti M. Chakravarty. *Myxidiidæ*. Poissons. Inde. Proc. Ind. Acad. Sci., XVIII (B.), 1943, p. 21 à 35.

Myxidium melum G.-R. Otto et J.-L. John. *Myxidiidæ*. Poissons. Amér. du Nord. Proc. Iowa Acad. Sci., L, 1943, p. 323-335.

Myxidium myoxocephali H.-B. Fantham, A. Porter et L.-R. Richardson. *Myxidiidæ*. Kyste. *Myoxocephalus octodecimspinosus* (Poiss.). Canada. Parasitology, XXXII, 1940, p. 339.

Myxidium serotinum R.-R. Kudo et V. Sprague. *Myxidiidæ*. *Rana* spp. (Batr.). Amérique Nord et Sud. Rev. Med. Trop. Habana, VI, 1940, p. 65-73.

Sphaeromyxa lateralis E.-R. Noble. *Myxidiidæ*. *Artedius lateralis*. Collidæ (Poiss.). Journ. of Paras., XXVII, 1941, p. 409-415.

Zschokella fossilæ M. Chakravarty. *Myxidiidæ*. Poissons. Inde. Proc. Ind. Acad. Sci., XVIII (B.), 1943, p. 21-35.

Zschokella ilishæ M. Chakravarty. *Myxidiidæ*. Poissons. Inde. Proc. Ind. Acad. Sci., XVIII (B.), 1943, p. 21-35.

Ceratomyxa scatophagi M. Chakravarty. *Ceratomyxidæ*. Poissons. Inde. Proc. Indian Acad. Sci., XVIII (B.), 1943, p. 21-35.

Ceratomyxa urophysis H.-B. Fantham, A. Porter et L.-R. Richardson. *Ceratomyxidæ*. Tumeurs vésiculeuses. *Urophysis tenuis* (Poiss.). Canada. Parasitology, XXXII, 1940, p. 334.

Leptotheca latesi M. Chakravarty. *Ceratomyxidæ*. Poissons. Inde. Proc. Indian Acad. Sci., XVIII (B.), 1943, p. 21-35.

Myxoproteus myoxocephali H.-B. Fantham, A. Porter et L.-R. Richardson. *Ceratomyxidæ*. Kystes. *Myoxocephalus groenlandicus* et *M. octodecimspinosus*. *Callionymidæ* (Poiss.). Canada. Parasitology, XXXII, 1940, p. 336-338.

Chloromyxum gibbosum J.-A. Herrick. *Chloromyxidæ*. *Eupomotis gibbosus*. *Centrarchidæ* (Poiss.). Lac Erié. Trans. Amer. Microsc. Soc., LX, 1941, p. 163.

Chloromyxum opladeli P.-A. Meglitsch. *Chloromyxidæ*. *Opladelus olivaris*. *Silaridæ* (Poiss.). Ohio river, Etats-Unis. Journ. of Paras., XXVIII, 1942, p. 83.

Chloromyxum thompsoni P.-A. Meglitsch. *Chloromyxidæ*. *Ictiobus bubalus* (Poiss.). Rivière Ohio, Etats-Unis. Journ. of Paras., XXVIII, 1942, p. 83-89.

Myxobolus bubalis G.-R. Otto et J.-L. John. *Myxobolidæ*. Poissons. Lac Okoboji, Etats-Unis. Proc. Iowa Acad. Sci., L, 1943, p. 323-335.

Myxobolus catlæ M. Chakravarty. *Myxobolidæ*. Poissons. Inde. Proc. Indian Acad. Sci., XVIII (B.), 1943, p. 21-35.

Myxosoma diaphana H.-B. Fantham, A. Porter et L.-R. Richardson. *Myxosomatidæ*. Tumeurs. *Fundulus diaphanus*. *Cyprinodontidæ* (Poiss.). Canada. Parasitology, XXXII, 1940, p. 342-344.

Myxosoma microthecum P.-A. Meglitsch. *Myxosomatidae*. *Minytrema melanops* (Poiss.). Etats-Unis. *Trans. Amer. Micr. Soc.*, LXI, 1942, p. 33-35.

Myxosoma okoboensis V.-J. Rice et T.-L. John. *Myxosomatidae*. Branchies. *Ictiobus bubalis* (Poiss.). Amérique du Nord, lac Okobo. *Proc. Iowa Acad. Sci.*, L, 1943, p. 313.

Triactinomyxon petri I. Georgevitch. *Triactinomyxidæ*. Oligochète. Yougoslavie. *Bull. Acad. Sci. Belgrade*, VI (B.), 1940, p. 139.

Sphaeractinomyxon ilyodrili O. Jirovec. *Triactinomyxidæ*. Oligochètes. Allemagne. *Arch. für Protistenk.*, XCIV, 1940, p. 212-223.

Nosema pimephales H.-B. Fantham, A. Porter et L.-R. Richardson. *Nosematidae*. *Pimephales promelas*. *Cyprinidae* (Poiss.). *Parasitology*, XXXIII, 1941, p. 186-208.

Nosema termitis R.-R. Kudo. *Nosematidae*. *Reticulitermes flavipes* (Isoptère). Etats-Unis. *J. Morph. Philadelphie*, LXXIII, 1943, p. 265-277.

Glugea caulleryi L. Van den Berghe (= *Glugea microspora* Van den Berghe, 1939). *Ammodytes lanceolatus* (Poiss.). *Jl. of Paras.*, XXVI, 1940, p. 238.

Glugea hertwigi H.-B. Fantham, A. Porter et L.-R. Richardson. *Nosematidae*. *Osmerus mordax*. *Salmonidae* (Poiss.). Canada. *Parasitology*, XXXIII, 1941, p. 186-208.

Perezia aeschnae H.-B. Fantham, A. Porter et L.-R. Richardson. *Nosematidae*. Larves d'*Eschna grandis* (Odonates). *Parasitology*, XXXIII, 1941, p. 186-208.

Gurleya aeschnae H.-B. Fantham, A. Porter et L.-R. Richardson. *Nosematidae*. Larves d'*Eschna grandis* (Odonates). *Parasitology*, XXXIII, 1941, p. 186-208.

Thelohania anomala P. Sen. *Nosematidae*. Larve d'*Anopheles* spp. (Diptère). Inde. *Proc. Indian. Sci. Congr.*, XXIX (3), 1943, p. 147 et *Jl. Malaria. Inst. India*, IV, 1941, p. 257-261.

Stempellia moniezi A.-W. Jones. *Nosematidae*. Hyperparasite, *Hymenolepis anthocephalus* Van Gundy et *Diorchis reynoldsi* (Cestodes). Intestin, *Blarina brevicauda*. *Soricidae* (Mamm.). Amérique du Nord. *Jl. of Paras.*, suppl. 10, 1942.

Duboscqia penetrans G. Thorne. *Nosematidae*. *Pratylenchus pratensis* (Nématode). *Proc. Helminth. Soc. Washington*, VII, 1940, p. 51-53.

Plistophora Kudo V. Sprague et I. Ramsey. *Nosematidae*. *Blatta orientalis* (Diclyoptères). Etats-Unis. *Anat. Rec. Philadelphia*, LXXXI, 1941, p. 132-133 et *Journ. of Paras.*, LXXVIII, 1942, p. 399-406.

Plasmodium bufonis H.-B. Fantham, Richardson et A. Porter. *Plasmodiidae*. *Bufo americanus* (Batr.). Canada. *Parasitology*, XXXIV, 1942, p. 199.

Plasmodium catesbiana H.-B. Fantham, A. Porter et L.-R. Richardson. *Plasmodiidae*. *Rana catesbiana* (Batr.). Canada. *Parasitology*, XXXIV, 1942, p. 199.

Plasmodium floridense P.-E. Thompson et C.-G. Huff, *Plasmodiæ*. *Sceloporus undulatus* (Rept.). Mexique. *Journ. Inf. Dis.*, Chicago, LXXIV, 1944, p. 68.

Plasmodium juxtannucleare Versiani et Gomez, *Plasmodiæ*. *Gallus domesticus* (Ois.). Brésil. *Rev. Bras. Biol.*, I, 1941, p. 231.

Plasmodium mexicanum P.-E. Thompson et C.-G. Huff, *Plasmodiæ*. *Sceloporus ferrariperezi* (Rept.). Mexique. *Journ. Inf. Dis.*, Chicago, LXXIV, 1944, p. 68.

Plasmodium rhadinarum P.-E. Thompson et C.-G. Huff, *Plasmodiæ*. *Iguana iguana* (Rept.). Amérique du Nord. *Journ. Inf. Dis.*, Chicago, LXXIV, 1944, p. 68.

Plasmodium struthionis H.-B. Fantham, A. Porter et L.-R. Richardson. *Struthio* sp. (Oiseaux). Soudan anglo-égyptien. *Proc. Zool. Soc., London*, GXIII (B.), 1943, p. 25-30.

Plasmodium wilsoni J.-I. Roberts, *Plasmodiæ*. Homme. Afrique Orientale. *East Afric. Med. Journ.*, XVII, 1940, p. 232-234.

Hæmoproteus coraciae C.-T. Valles. *Hæmoproteidæ*. *Coracias indica* (Oiseaux). *Arq. Esc. Med. Chirurg. Nova-Goa*, XII, 1938, p. 309-314.

Hæmoproteus fulicae C.-T. Valles. *Hæmoproteidæ*. *Fulica atra* (Ois.). *Arq. Esc. Med. Chirurg., Nova-Goa*, XII, 1938, p. 309-314.

Hæmoproteus handai M. Maqsood. *Hæmoproteidæ*. *Psittacula cyanocephala* (Ois.). Inde. *Indian Vet. Journ.*, XX (2), 1943, p. 109-111.

Hæmoproteus lanoraiea H.-B. Fantham, A. Porter et L.-R. Richardson. *Bufo americanus* (Batr.). Canada. *Parasitology*, XXXIV, 1942, p. 199-206.

Hæmoproteus laurentiae H.-B. Fantham, A. Porter et L.-R. Richardson. *Bufo americanus* (Batr.). Canada. *Parasitology*, XXXIV, 1942, p. 199-206.

Leucocytozoon salvelini H.-B. Fantham, A. Porter et L.-R. Richardson. *Hæmoproteidæ*. *Salvelinus fontinalis*. *Salmonidæ* (Poiss.). Canada. *Parasitology*, XXXIV, 1942, p. 199-206.

Babesia ardeae C. Toumanoff. *Piroplasmidæ*. *Ardea cinerea* (Ois.). Indochine. *Rev. Med. Franç. Extr-Orient, Hanoi*, XVIII, 1941, p. 491-496.

Babesia foliata H.-N. Ray et K. Raghavachari, *Piroplasmidæ*. Inde. Moutons, chèvres (Mamm.). *Indian J. Vet. Sci.*, XI, 1941, p. 239-242.

Dactylosoma salvelini H.-B. Fantham, A. Porter et L.-R. Richardson. *Piroplasmidæ*. *Salvelinus fontinalis* (Poiss.). Canada. *Parasitology*, XXXIV, 1942, p. 199-206.

Dactylosoma sylvatica H.-B. Fantham, A. Porter et L.-R. Richardson. *Piroplasmidæ*. *Rana sylvatica* (Batr.). Canada. *Parasitology*, XXXIV, 1942, p. 199-206.

Toxoplasma hominis A. Wolf, D. Coven et B.-H. Paige, *Piroplasmidæ*. Encéphalite de l'Homme. *Journ. Exper. Med.*, Baltimore, LXXI, 1940, p. 187-214.

Sarcocystis eutamias M. Tanabe et M. Okinami, *Sarcosporidia*. Japon. Muscles. *Eutamias asiaticus*. *Sciuridæ* (Mamm.). *Keizyo. J. Med.*, X, 1940, p. 124.

Sarcocystis jacarinae M.-P. Barretto. *Sarcosporidia*. Muscle. *Volatinia jacarina* (Tiziu). *Fringillidae* (Ois.). Brésil. *Arq. Zool. São-Paulo*, I, 1940, p. 339-368.

Sarcocystis salvelini H.-B. Fantham, A. Porter et L.-R. Richardson. *Sarcosporidia*. *Salvelinus fontinalis*. *Salmonidae* (Poiss.). Canada. *Proc. Zool. Soc. London*, (B.) CXIII, 1943, p. 25-30.

Haplosporidium aulodrili O. Jirovec. *Haplosporidia*. *Aulodrilus* (Oligochète). *Archiv für. Protistenkunde*, XCIV, 1940, p. 80-92.

Urosporidium charletyi R.-Ph. Dollfus. *Haplosporidia*. Hyperparasite de *Calenotænia dendritica* (Cestode) in *Sciurus vulgaris* (Mamm.), France. *C. R. Acad. Sci., Paris*, CCXVII, 1943, p. 270-272.

Caryoletira H. Kirby. *Haplosporidia*. Espèce-type : *C. magna* H. Kirby. *Univ. Calif. Publ. Zool.*, XLIX (8), 1944, p. 185-282.

Caryoletira anulata H. Kirby. *Haplosporidia*. Hyperparasite de *Trichonympha* sp. (Flagelle), in *Termites* (Isoptère). Amérique du Nord. *Univ. Calif. Publ. Zool.*, XLIX (8), 1944, p. 185-282.

Myxobolus clarii M. Chakravarty. *Myxobolidae*. Poissons. Inde. *Proc. Indian. Acad. Sci.*, XVIII (B.), 1943, p. 21-35.

Myxobolus gibbosus J.-A. Herrick. *Myxobolidae*. *Eupomotis gibbosus* (Poiss.). Lac Erié. *Trans. Amer. Micr. Soc.*, LX, 1941, p. 163.

Myxobolus iowensis G.-R. Otto et J.-L. John. *Myxobolidae*. Poissons. États-Unis. *Proc. Iowa Acad. Sci.*, L, 1943, p. 323-335.

Myxobolus okobojensis G.-R. Otto et J.-L. John. *Myxobolidae*. Poissons. États-Unis, lac Okoboji. *Proc. Iowa Acad. Sci.*, L, 1943, p. 323-335.

Myxobolus sparoides G.-R. Otto et J.-L. John. *Myxobolidae*. Poissons. États-Unis, lac Okoboji. *Proc. Iowa Acad. Sci.*, L, 1943, p. 323-335.

Myxobolus symmetricus V.-J. Rice et J.-L. John. *Myxobolidae*. Branchies. Poissons. Amérique du Nord. *Proc. Iowa Acad. Sci.*, L, 1943, p. 313-321.

Henneguya ameiurensis R.-F. Nigrelli et G.-M. Smith. *Myxobolidae*. Barbillons d'*Ameiurus nebulosus* (Poiss.). Amérique du Nord. *Zoologica*, XXV, 1940, p. 89-96.

Henneguya amiae H.-B. Fantham, A. Porter et L.-R. Richardson. *Myxobolidae*. Filament branchial. *Amia calva* (Poiss.). Canada. *Parasitology*, XXXII, 1940, p. 344.

Henneguya magna V.-J. Rice et T.-L. John. *Myxobolidae*. Branchies. *Leptobema chrysops* (Poiss.). Lac Okoboji, Amérique du Nord. *Proc. Iowa Acad. Sci.*, L, 1943, p. 313.

Henneguya ohioensis J.-A. Herrick. *Myxobolidae*. *Eupomotis gibbosus* (Poiss.). Lac Erié. *Trans. Amer. Micros. Soc.*, LX, 1941, p. 163.

M. ANSEL.

Nématodes

Aprocta corvicola Johnston et Mawson. *Aproctinae*. Derrière l'œil. *Corvus coronoides* (Ois.). Australie. *Trans. Roy. Soc. S. Austr.*, LXIV, 1940, p. 358.

Austrofilaria Johnston et Mawson. *Setariinæ*. Espèce-type : *A. vestibulata*. Trans. Roy. Soc. S. Austr., LXIV, 1940, p. 357.

Austrofilaria vestibulata Johnston et Mawson. *Setariinæ*. *Aphelocephala nigricincta* (Ois.). Australie. Trans. Roy. Soc. S. Austr., LXIV, 1940, p. 357.

Bancroftinema Johnston et Mawson. *Spiruroidea*. Espèce-type : *B. dentatum*. Trans. Roy. Soc. S. Austr., LXV, 1941, p. 33.

Bancroftinema dentatum Johnston et Mawson. *Spiruroidea*. *Hieracidea berigora* (Ois.). Queensland. Trans. Roy. Soc. S. Austr. LXV, 1941, p. 33.

Camallanus zarconis Li. *Camallanidæ*. Intestin. *Zarco temmincki* (Poiss.). Chine. Peking Nat. Hist. Bull., XV, 1941, p. 196.

Cardionema Yamaguti. *Filariidæ*. Espèce-type : *C. ten*. Japan. J. Zool., IX, 1941, p. 436.

Cardionema ten Yamaguti. *Filariidæ*. Cœur. *Martes melampus* (Mamm.). Japon. Japan. J. Zool., IX, 1941, p. 436.

Carinema dubia Johnston et Mawson. *Aproctinæ*. Cavité générale. *Pseudopsittacus maclelleni*, *P. graucalinum* (Ois.). Queensland. Trans. Roy. Soc. S. Austr., LXIV, 1940, p. 358.

Cheilonematodum Johnston et Mawson. *Spiruroidea*. Espèce-type : *C. halcyonis*. Proc. Linn. Soc. N.S.W., LXVI, 1941, p. 253.

Cheilonematodum halcyonis Johnston et Mawson. *Spiruroidea*. *Halcyon sanctus* (Ois.). Australie. Proc. Linn. Soc. N.S.W., LXVI, 1941, p. 253.

Cyrnea dentifera Johnston et Mawson. *Spiruridæ*. *Eupodotis australis* (Ois.). Australie. Proc. Linn. Soc. N.S.W., LXVI, 1941, p. 255.

Denticulospirura Johnston et Mawson. *Spiruridæ*. Espèce-type : *D. dentata*. Rec. Austr. Mus. Sydney, XXI, 1941, p. 10.

Denticulospirura dentata Johnston et Mawson. *Spiruridæ*. *Phascogale pericillata* (Mamm.). Australie. Rec. Austr. Mus. Sydney, XXI, 1941, p. 10.

Diplotriaena alpha Johnston et Mawson. *Filariidæ*. *Streperea graculina* (Ois.). Australie. Trans. Roy. Soc. S. Austr., LXIV, 1940, p. 359.

Diplotriaena beta Johnston et Mawson. *Filariidæ*. *Corvus coronoides* (Ois.). Australie. Trans. Roy. Soc. S. Austr., LXIV, 1940, p. 359.

Diplotriaena gamma Johnston et Mawson. *Filariidæ*. *Spreus superbus* (Ois.). Australie. Trans. Roy. Soc. S. Austr., LXIV, 1940, p. 359.

Diplotriaena delta Johnston et Mawson. *Filariidæ*. *Malurus lamberti* (Ois.). Australie. Trans. Roy. Soc. S. Austr., LXIV, 1940, p. 359.

Diplotriaena epsilon Johnston et Mawson. *Filariidæ*. *Cracticus destructor* (Ois.). Australie. Trans. Roy. Soc. S. Austr., LXIV, 1940, p. 360.

Y. CAMPANA.

Le Gérant : Georges MASSON.

MASSON et Cie Editeurs, Paris

Dépôt légal : 1948 (3^e trimestre) — Numéro d'ordre : 725
à Cahors (France). — 77.283. — C. O. L. 31.2330

Imprimé par Imp. A. COUESLANT (personnel intéressé)